АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXI. ВЫП. 6

НОЯБРЬ — ДЕКАБРЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1952

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
7 FEB 1953

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2 КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

XIX СЪЕЗД КОММУНИСТИЧЕСКОЙ ПАРТИИ СОВЕТСКОГО СОЮЗА И ЗАДАЧИ МИКРОБИОЛОГИИ

XIX съезд Коммунистической партии Советского Союза, состоявшийся в Москве с 5 по 14 октября 1952 г., представляет собой важнейшую веху в истории партии Ленина — Сталина, в истории борьбы нашего народа за коммунизм.

Съезд подвел итоги героической борьбы и всемирно-исторических побед нашей партии и наметил величественную программу дальнейшего экономического и культурного развития Советского Союза.

XIX съезд явился яркой демонстрацией единства нашей партии, ее сплоченности вокруг Центрального Комитета, вокруг любимого вождя и учителя товарища Сталина.

Решения съезда убедительно показывают, что Коммунистическая партия повседневно проявляет неустанную заботу о максимальном удовлетворении постоянно растущих потребностей советских людей, что высшим законом для нашей партии является забота о благе и процветании советского человека.

Решения съезда и гениальное произведение товарища Сталина «Экономические проблемы социализма в СССР», опубликованное накануне съезда, идейно вооружают партию и советский народ, указывают им путь постепенного перехода от социализма к коммунизму.

Бурный патриотический подъем, вызванный историческими решениями XIX съезда, нашел свое выражение в единодушном стремлении рабочих, колхозников и интеллигенции нашей страны как можно активнее включиться в выполнение этих решений, как можно скорее найти пути, обеспечивающие наиболее успешное выполнение грандиозных задач, поставленных съездом.

XIX съезд партии был яркой демонстрацией растущей сплоченности сил, борющихся за мир, демократию и социализм.

Миролюбивая сталинская внешняя политика полностью отвечает интересам советского народа и совпадает с коренными, жизненными интересами и стремлениями трудящихся всех стран и всего прогрессивного человечества. Поэтому исторические решения XIX съезда и речь товарища Сталина встречены с большим удовлетворением трудящимися всех стран и всем прогрессивным человечеством.

Решения съезда воодушевляют советский народ на еще более активную борьбу за дело коммунизма, за мир, против опасности новой войны.

Решениями XIX съезда партии определены главные задачи, которые стоят перед советской наукой на новом историческом этапе, в котором находится наша страна.

Советский строй открыл огромные возможности для развития передовой советской науки. Наша партия, правительство и лично товарищ Сталин постоянно заботятся о развитии и процветании советской науки. Никогда еще наука не имела таких благоприятных условий для своего расцвета, какие она имеет у нас в настоящее время. Наука у нас стала достоянием широких масс трудящихся.

Для развития нашей науки, для советских ученых исключительно важное значение имели решения Центрального Комитета партии по идеологическим вопросам, проведенные дискуссии по биологии, физиологии,

языкознанию, по неклеточным формам жизни, по экономическим вопросам и другие.

Победа мичуринского учения над реакционным вейсманизмом-морганизмом открыла перед советскими учеными широкие перспективы для творческой деятельности. Все эти мероприятия помогли нашим ученым поднять советскую науку на новый более высокий уровень, усилить партийность в науке, разоблачать извращения буржуазной науки и изгнать из нашей науки ложные, антинаучные, идеалистические и метафизические концепции, проникшие в отдельные ее отрасли.

Неоценимую помощь советским ученым оказал гениальный труд товарища Сталина «Марксизм и вопросы языкознания».

Эта работа имела исключительно важное значение не только для языкознания. Она помогла нашим ученым найти правильные пути для развития всех отраслей науки, правильно понять место и значение науки среди других общественных явлений.

Величайшее значение для марксистско-ленинской теории, для развития нашей науки, для нашей практической деятельности имеет гениальная работа товарища Сталина «Экономические проблемы социализма в СССР».

Этот труд — новый крупнейший вклад в марксистско-ленинскую науку об обществе, в науку о строительстве коммунизма. Он знаменует собой новый этап в развитии марксизма.

В этом труде товарищ Сталин дал блестящий анализ характера экономических законов при социализме и научно обосновал открытый им основной экономический закон социализма.

Труд товарища Сталина «Экономические проблемы социализма в СССР» вооружает советских ученых новым могучим идейным оружием борьбы за коммунизм.

Учитывая все возрастающее значение науки в жизни нашего общества, партия уделяет большое внимание дальнейшему ее развитию.

Это вполне понятно и закономерно, так как развитие науки входит как составная часть во все развивающуюся жизнь нашего общества.

Директивы XIX съезда партии по пятилетнему плану предусматривают ряд мероприятий, обеспечивающих дальнейшее развитие нашей науки. Запланированы большие капитальные вложения на строительство научно-исследовательских институтов и высших учебных заведений.

Количество научных и научно-педагогических кадров, которые будут подготовлены через аспирантуру, будет увеличено примерно в 2 раза по сравнению с предыдущей пятилеткой.

Советские ученые успешно трудятся над осуществлением почетной и ответственной задачи, поставленной перед ними товарищем Сталиным,— о необходимости в ближайшее время не только догнать, но и превзойти достижения науки за пределами нашей страны.

С гордостью за нашу родную науку мы можем отметить, что советские ученые успешно осуществляют это указание своего любимого вождя и в ряде отраслей знания они заняли первые места в области развития мировой науки.

Наша наука все более и более помогает советскому народу полнее вскрывать и лучше использовать силы природы и неисчислимые богатства нашей Родины.

Исторические решения XIX съезда, открывающие перед всем советским народом величественные перспективы строительства коммунизма, предъявляют большие требования к советским ученым. В выполнении пятилетнего плана науке отводится весьма ответственная роль.

В директивах XIX съезда с исчерпывающей ясностью сформулированы важнейшие задачи, стоящие перед партийными организациями, руководителями научно-исследовательских учреждений и советскими учеными в области науки:

«Улучшить работу научно-исследовательских институтов и научную работу высших учебных заведений, полнее использовать научные силы для разрешения важнейших вопросов развития народного хозяйства, обобщения передового опыта, обеспечивая широкое практическое применение научных открытий. Всемерно содействовать ученым в разработке ими теоретических проблем во всех областях знания и укреплять связь науки с производством».

Велики и ответственны задачи, стоящие перед советскими микробиологами в деле обеспечения выполнения и перевыполнения пятого пятилетнего плана. Советская микробиология теснейшим образом связана с разнообразными отраслями промышленности, сельского хозяйства и медицины.

Отличительной чертой нашей отечественной микробиологии является то, что она всегда являлась созидательной наукой.

Советские микробиологи считали и считают своей основной и единственной задачей служение делу мира, оказание своему народу активной помощи в его борьбе за радостную, счастливую жизнь. Нашей отечественной микробиологии всегда были чужды человеконенавистнические устремления реакционной буржуазной науки. Вот почему с таким чувством гнева, величайшего негодования и возмущения отнеслись советские микробиологи к использованию американскими агрессорами в Корее и Китае недозволенного, преступного микробиологического оружия в целях осуществления своих бредовых идей о мировом господстве.

За последние десятилетия советская микробиология достигла небывалого расцвета. Многочисленная армия советских микробиологов, прекрасно обеспеченная Советским государством, созидательно трудится в разнообразнейших областях микробиологии. Какую отрасль микробиологии ни возьмем — общую, техническую, сельскохозяйственную, водную, медицинскую и другие,— всюду мы можем отметить значительные успехи советских микробиологов.

Из года в год увеличивается количество предприятий, целиком основанных на использовании микроорганизмов. Советские микробиологи своими трудами способствовали возникновению у нас в последние годы ряда новых производств, имеющих важное народнохозяйственное значение, как, например, антибиотической, ферментной, гидролизной, витаминной и других отраслей промышленности.

Яркой иллюстрацией успехов советской микробиологии является то, что среди лауреатов Сталинских премий мы ежегодно встречаем имена наших микробиологов, удостоенных этой высокой награды за выдающиеся достижения в области общей микробиологии, за разработку эффективных методов борьбы с инфекционными болезнями человека, животных и растений, за исследования в области повышения урожайности, за успехи в деле применения микробов в целях получения ценных пищевых и промышленных продуктов.

Достигнутые советской микробиологией успехи дают все основания ожидать, что наши микробиологи будут дальше развивать передовую советскую науку и добьются того, что она будет занимать первое место в мировой науке.

Среди важнейших задач, стоящих перед советскими микробиологами, ведущее место должно быть уделено разработке основных теоретических проблем общей, сельскохозяйственной, технической и медицинской микробиологии. Разработка этих проблем должна проводиться в тесной связи с практическими запросами конкретных отраслей народного хозяйства и медицины, так как это наиболее верный путь к глубокому познанию закономерностей развития живой природы.

Давно известно, что чем теснее связь теории с практикой, тем плодотворнее результаты научной работы.

Из наиболее актуальных теоретических вопросов, стоящих перед советской микробиологией, успешное разрешение которых будет способствовать развитию всех разделов микробиологии, можно отметить:

глубокое изучение физиологии и биохимии микробов с целью управления их жизнедеятельностью и овладения методами направленного усиления тех или иных функций и свойств, а также в связи с направленным изменением их наследственности;

разработку методов быстрого получения практически ценных форм микробов и методов закрепления их полезных свойств;

всестороннее изучение стадийности развития микробов и выяснение биологического значения отдельных стадий;

проблему вида и видообразования у микроорганизмов в связи с конкретными задачами каждой отрасли микробиологии;

углубленное, всестороннее изучение неклеточных форм жизни микробов для выяснения роли и значения этих форм в происхождении, развитии и изменчивости микробов; дальнейшее расширение работ в области углубленного изучения геологической деятельности микроорганизмов и др.

Весьма серьезные задачи стоят перед микробиологами, работающими в области сельскохозяйственной микробиологии. Все их усилия должны быть направлены на обеспечение успешного выполнения главной задачи в области сельского хозяйства, заключающейся в дальнейшем всемерном повышении урожайности всех сельскохозяйственных культур, дальнейшем увеличении общественного поголовья скота при одновременном значительном росте его продуктивности.

Почвенные микробиологи должны творчески развивать учение основоположников научного почвоведения Докучаева — Костычева — Вильямса, ставя перед собой задачу овладения микробиологическими процессами в почве, обеспечивающими прогрессирующее повышение ее плодородия.

Особое внимание должно быть уделено микробиологическим исследованиям, связанным с освоением травопольных севооборотов и повышением их эффективности, выяснением наиболее правильных приемов обработки почвы, разработкой высокоэффективных методов использования минеральных и органических удобрений, а также методов приготовления, хранения и применения бактериальных удобрений.

В пятой пятилетке будут проделаны значительные работы по выполнению Сталинского плана преобразования природы.

Советские микробиологи должны своими исследованиями всемерно содействовать повышению эффективности работ по полезащитному лесоразведению и помочь добиться высокой приживаемости и сохранности древесных и кустарниковых пород в лесных насаждениях.

Советская микробиологическая наука обязана активнейшим образом содействовать усиленному осуществлению великих сталинских строек коммунизма — мощных гидроэлектростанций, каналов и оросительных систем на Волге, Дону, Днепре и Аму-Дарье, которые дадут возможность в короткий срок преобразовать природу путем орошения и обводнения огромных территорий пустынных и полузасушливых районов.

Не менее важное значение для нашего социалистического сельского хозяйства имеют вопросы, связанные с разработкой более эффективных методов борьбы с потерями сельскохозяйственных культур от болезней, вызываемых фитопатогенными микробами и вирусами, а также с потерями при хранении и переработке сельскохозяйственной продукции, вызываемыми микроорганизмами.

Справедливую оценку наша сельскохозяйственная наука получила в отчетном докладе XIX съезду партии о работе ЦК Г. М. Маленкова. Товарищ Маленков говорил: «Наша сельскохозяйственная наука внесла большой вклад в дело подъема сельского хозяйства. Разоблачены и разгромлены антинаучные, реакционные идеи в сельскохозяйственной науке,

и она развивается теперь на единственно правильной — материалистической, мичуринской основе, вооружая наших работников в их деятельности по развитию сельского хозяйства. Но, несмотря на имеющиеся достижения, сельскохозяйственная наука все еще отстает от запросов колхозного и совхозного производства. Социалистическая система сельского хозяйства дает широкий простор для науки, позволяет быстро распространять достижения науки и передового опыта, делать их достоянием всех колхозов, МТС и совхозов» (Г. М. Маленков. Отчётный доклад XIX съезду партии о работе Центрального Комитета ВКП(б)).

Недостатки, отмеченные товарищем Маленковым в сельскохозяйственной науке, имеют место и в других отраслях науки, в том числе и микробиологии.

Важнейшей задачей микробиологов, работающих в области сельскохозяйственной микробиологии, как и в других областях микробиологии, следует считать быстрое устранение отмеченных в докладе товарища Маленкова недочетов в их работе.

Пятый пятилетний план предусматривает дальнейшее значительное развитие легкой и пищевой промышленности.

От работников пищевой промышленности партия требует не только значительного увеличения количества вырабатываемых пищевых продуктов, но и значительного улучшения качества этих продуктов, в первую очередь повышения их питательности.

Советские микробиологи обязаны в своих исследованиях предусмотреть эти требования и добиться их осуществления.

Наша микробиологическая наука должна принять активное участие в решении ряда важнейших задач, поставленных партией перед здравоохранением, и в первую очередь в области профилактики инфекционных заболеваний.

Директивы XIX съезда требуют обратить особое внимание на расширение производства новейших медикаментов и других лечебно-профилактических средств.

Советские микробиологи, давшие в содружестве с научными работниками других специальностей ряд ценных лечебных и профилактических препаратов, должны направить свои усилия на изыскание и быстрейшее внедрение в практику здравоохранения новых, еще более эффективных антибиотических препаратов.

Из важнейших задач, стоящих перед советскими микробиологами, следует особо подчеркнуть необходимость беспощадного разоблачения всяких антинаучных, человеконенавистнических концепций, развиваемых зарубежными реакционными учеными — прислужниками поджигателей новой войны.

Необходимо беспощадно разоблачать любую их попытку открыто или замаскированно использовать науку для обоснования или оправдания агрессивной, преступной политики империалистических заправил и их реакционной, шовинистической, человеконенавистнической идеологии.

Среди условий, от которых зависит успешное осуществление задач, поставленных XIX съездом партии перед нашей наукой, важное место занимает широкое развертывание критики и самокритики недостатков в научно-исследовательской работе.

Указания товарища Сталина, что «...никакая наука не может развиваться и преуспевать без борьбы мнений, без свободы критики», оказали благотворное влияние на развитие всех отраслей советской науки.

Критика и самокритика должна стать основным, постоянно действующим методом в нашей повседневной работе. Особое внимание должно быть уделено систематическому проведению творческих дискуссий и широких обсуждений по всем актуальным вопросам современной микробиологии.

Критика в научной работе должна быть в первую очередь направлена

против всевозможных проявлений буржуазной идеологии, против всякого рода идеалистических извращений.

В своей практической работе мы должны руководствоваться тем, что «последовательное проведение в жизнь лозунга критики и самокритики требует решительной борьбы со всеми, кто препятствует ее развертыванию, кто учиняет преследования и гонения за критику» (Г. М. Маленков. Отчётный доклад XIX съезду партии о работе Центрального Комитета ВКП(б)).

Советские ученые в целях активного содействия успешному осуществлению грандиозных задач, поставленных перед страной новым пятилетним планом, обязаны всемерно укреплять творческое содружество науки с практикой и постоянно оказывать широкую помощь и поддержку новаторам производства, носителям нового, передового.

Возникшее у нас в стране по почину ленинградцев патриотическое движение за творческое содружество работников науки с работниками производства уже добилось ряда ценных результатов. Важнейшая задача работников научно-исследовательских учреждений — всемерно содействовать дальнейшему развитию этой социалистической формы взаимоотношения науки с практикой.

Имеющийся опыт убедительно показывает, что творческое содружество науки с практикой позволяет не только успешно решать важные для народного хозяйства вопросы, но и весьма благотворно влияет на развитие самой науки, так как при этом обогащает ее опытом практики.

Советские микробиологи должны считать одной из своих важнейших задач оказание всемерной поддержки передовикам промышленности и сельского хозяйства в их стремлении повысить производительность труда, повысить качество продукции и снизить ее себестоимость. Необходимо систематическое всестороннее изучение и обобщение опыта новаторов производства, необходимо заботиться о всемерном их развитии.

Задачи, стоящие перед советскими учеными, велики и многогранны. Никогда еще не были они так важны и ответственны как в настоящее время. Нет никакого сомнения в том, что советские ученые, вместе со всем советским народом, вооруженные историческими решениями XIX съезда Коммунистической партии Советского Союза, речью товарища Сталина, его учением о путях перехода от социализма к коммунизму, обогатят нашу науку новыми открытиями и изобретениями, добьются новых выдающихся успехов, которые будут способствовать выполнению и перевыполнению пятого пятилетнего плана развития СССР и претворению в жизнь предначертаний нашего великого вождя, друга и учителя Иосифа Виссарионовича Сталина.

УКСУСНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ В МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ

М. Р. Гибшман

За последние 20 лет внимание советских микробиологов неоднократно обращалось к «симбиозу» молочнокислых и подвижных бактерий, описанных в отечественной литературе под различными наименованиями.

Королев [5] в 1931 г. выделил из образца сметаны прочную «симбиотического» характера смешанную культуру, состоящую из слизистой расы молочнокислого стрептококка и специфических микробов, не принадлежавших к группе молочнокислых бактерий. Эти специфические бактерии морфологически не были отличимы от молочнокислых стрептококков, имели отчетливо выраженные ацидофильные свойства, резко выраженную активную подвижность и при культивировании в молоке с молочнокислыми стрептококками давали на поверхности сгустка бледнооранжевое или красноватое окрашивание. Королев условно называл их «подвижными стрептококками».

Рудометкина [8] в 1936 г. описала культуру протеолитического стрептококка типа Str. lactis, которая по описанию походила на симбиотическую культуру Королева.

Богданов [2] несколько подробнее описал эту симбиотическую закваску, в состав которой входил молочнокислый стрептококк и подвижный диплококк. Богданов отметил значительную протеолитическую активность этой закваски в молоке, бо́льшую стойкость молочнокислого стрептококка в симбиозе, чем в чистой культуре, и оранжевое окрашивание на поверхности сгустка молока, сквашенного этой закваской.

Палладина [7] в 1941 г. характеризовала подвижных стрептококков, как «*о*-мукоидные формы молочнокислых бактерий». В своей книге «Возбудители молочнокислого брожения» она указывает, что «неизвестные стрептококки» совершенно очевидно являются *о*-мукоидной формой гомоферментативного молочного стрептококка, которые при совместном культивировании с S- или R-вариантами молочнокислых стрептококков вызывают на поверхности сгустка молока вначале образование желтого пигмента (столь характерного для окисленной формы флавина), а затем усиленный протеолиз, сопровождающий потребление молочной кислоты. *о*-варианты интенсивно дышат как за счет сахаров, так и молочной кислоты. При подсеве *о*-вариантов к S- и R-формам молочнокислых бактерий жизнеспособность последних повышалась. По данным Палладиной, *о*-мукоидные формы синтезируют флавин. Гибшман [13] не согласилась с мнением Палладиной, что подвижные стрептококки являются *о*-вариантом молочнокислых бактерий, и назвала их условно «подвижными протеолитическими бактериями». Эти культуры обладали способностью разлагать белки молока и одновременно отличались значительной ацидофильностью. Они могли развиваться на МПА при pH = 4,2 и даже 3,1.

Дальнейшие наши исследования (1949—1950) показали, что эти бактерии широко встречаются в молочных продуктах. Они были найдены во всех образцах сметаны из г. Новосибирска, почти по всех образцах из г. Пятигорска, в лучших образцах голландского сыра из Пятигорска. Они найдены во многих образцах молочных продуктов — сметане, молоке, твороге, сыре и масле из центральных областей РСФСР и во всех образцах кефирных грибков. Эти бактерии были обнаружены также в молоке и молочных продуктах Омской области.

Распространенность подвижных стрептококков в молочных продуктах, симбиотический характер их взаимоотношений с молочнокислыми бактериями, а также тот факт, что, несмотря на все проведенные работы, положение подвижных стрептококков в систематике оставалось спорным, заставили нас заняться более углубленным изучением этой интересной группы бактерий. Выделение культур проводилось следующим образом.

Молочнокислые продукты — сметана, масло, творог и сыр (последние после растирания) вносились в стерильное молоко в количестве 2—3% и посевы помещались при 30° на 2—4 дня. Если исследовалось молоко, то 10—15 мл последнего помещалось в стерильную про-

бирку, закрытую ватной пробкой, и оставлялось при 30° также на 2—4 дня. Из образцов, давших на поверхности сгустка молока оранжево-желтое окрашивание, из верхнего слоя производились высевы на МПА, подкисленный стерильной молочной кислотой (10%-ный раствор в количестве 0,5—1 мл на 10 мл готового МПА). Посевы выдерживались при 30°. Через 72 часа колонии отвивались в МПБ, также подкисленный молочной кислотой. Перед началом работы все культуры до 5 раз подряд были пересеяны с чашки на чашку на МПА, подкисленный молочной кислотой. Для более детального изучения были отобраны 8 культур подвижных стрептококков, выделенных из сыра, молока и кефирных грибков.

Морфологические и культуральные признаки

Выделенные бактерии представляют собой подвижные перитрихи (окраска Лефлера, Бенигетти, Кон и Вольф [10]); клетки палочковидные, часто овальные, одиночные или соединенные парами или в цепочки, отличаются гетероморфностью. Размеры клеток колеблются в пределах 0,6—2,5 × 0,4—0,6 μ, встречаются еще более мелкие формы. По внешнему виду клетки некоторых культур почти не отличаются от молочнокислых стрептококков, часть же культур имеет более длинные клетки до 4—31 μ. Длинные нитевидные клетки волнообразной формы и с заостренными концами. Некоторые палочки имеют серповидную форму. На синтетических средах дают инволюционные формы. По Граму не окрашиваются. На МПА и сусло-агаре колонии маслянистые, блестящие, бесцветные или желтоватые с ровными или вдавленными краями, иногда с выростами, на мясо-пептонной желатине (МПЖ) — более плоские, чаще амебовидные. Культуры с длинными нитевидными клетками образуют колонии с исчерченной шероховатой поверхностью. На МПА и МПЖ около колонии появляется беловато-опаловое окрашивание. На МПА с молочной кислотой цвет колоний более желтый (табл. 1).

При посеве уколом в МПЖ — гвоздевидный рост, но развитие отмечается по всему уколу. В МПБ с кислотой дают пленку нежную или более тяжелую, опускающуюся на дно, бульон чаще мутный. На картофеле и моркови — ограниченный желтоватый налет. Образование пленки на жидких средах указывает на аэробный характер этих бактерий, но развитие по всему уколу в МПЖ говорит о возможности отнесения их к факультативным аэробам.

Физиологические признаки

Описываемые бактерии желатину не разжижают. Образуют каталазу и разрушают перекись водорода.

Из 12 испытанных углеводов они сбраживают с образованием нелетучих кислот глюкозу и частично пентозы и галактозу. При выдерживании культур в средах с углеводами в течение полутора месяцев некоторые штаммы сбраживают еще крахмал. Оптимальная температура для их развития 30°. Они хорошо растут при 20° и слабо при 37—38°.

Некоторые культуры способны восстанавливать нитраты в нитриты (табл. 1). Развиваясь в МПБ, они подщелачивают бульон. При развитии в молоке культуры не образуют кислоты, а наоборот, подщелачивают его, в дальнейшем вызывают протеолиз (табл. 2).

Из таблицы видно, что подвижные стрептококки обладают значительной способностью к разложению белков молока, хотя этот процесс протекает замедленно. Таким образом, исследуемые культуры способны разлагать белки молока, но они не разжижают желатины. Подобное явление наблюдается также у молочнокислых палочек. Повидимому,

Некоторые свойства «подвижных стрептококков»

№ культуры	Источник выделения	Размер клеток в микронах (возраст 48 часов)		Подвижность	Колонии			Рост по уколу в МПЖ	Окраска по Граму	Разжижение желатины	Восстановление нитратов в нитриты	Разложение H_2O_2	Образование летучих кислот	
		МПБ	молоко		МПА	МПЖ	сусло-агар						в молоке	МПБ+ +глюкоза
1	Кефирный грибок	0,6—2,5 × × 0,3—0,6	0,4—3 × 0,4	Подвижность перитриха	Круглые, светлые, блестящие	Амебовидные	Неровные края	Гвоздев. развитие по всему уколу	Отрицательная	Нет	Восстановление	Разлагают	Нет	Нет
2	То же	0,9—1,4 × × 0,4	0,4—1,2 × × 0,3—0,4	То же	То же	Неровные края	Круглые с вдавлен. краями	То же	„	„	Нет	„	„	„
3	Молоко	0,6—2,5 × × 0,4—0,6	0,6—1,7 × 0,4	„	С выростами, блестящ.	Амебовидные	То же	„	„	„	„	„	„	„
4	Сыр голландский	0,5—1,8 × × 0,4—0,6	0,4—1,7 × × 0,4	„	Округлые, блестящие	С выростами, плоские	„	„	„	„	Восстановление	„	„	„
5	То же	0,8—1,4 × × 0,4—0,9	0,4—1,7 × × 0,4	„	Округлые с вдавлен. краями	Амебовидные	„	„	„	„	„	„	„	„
6	Кефирный грибок	0,3—3,7 × × 0,2—0,4	0,3—0,5 × × 0,2—0,6	„	Округлые, светлые, блестящие	„	Округлые с выростами	„	„	„	Нет	„	„	„
7	Сыр ярославский	0,3—31 × 0,3	0,6—9 × × 0,4—0,6	„	Шероховатые	Неровные края	Лопастные	„	„	„	„	„	„	„
8	Сыр голландский	0,6—15 × × 0,1—0,6	0,6—9 × × 0,4—0,6	„	Округлые шероховатые	Округлые, шероховатые	Округлые, шероховатые	„	„	„	Восстановление	„	„	„

подвижные стрептококки и молочнокислые палочки обладают специфическими протеолитическими ферментами.

Особенностью подвижных стрептококков является их способность к разложению органических кислот и развитию на синтетических средах [1], где единственным источником азота являются соли аммония, а углерода — молочная кислота или глюкоза (табл. 3).

Таблица 2

Протеолитическая активность в молоке

(алкалиметрический метод)

№ культуры	Протеолитическая активность	
	через 20 дней	через 4 месяца
1	24,6	118,0
2	27,8	128,0
7	18,2	148,0
8	13,4	138,0

Культуры хорошо развиваются и образуют мощную пленку на синтетической среде с молочной кислотой, которая используется как единственный источник углеродистого питания. При сбраживании глюкозы они образуют нелетучие кислоты, природа которых нами еще не установлена.

Добавление к синтетической среде пептона или печеночного экстракта не усиливает процесса разложения молочной кислоты, тогда как сбраживание глюкозы у одних культур несколько активируется, у других — нет. Подвижные стрептококки хорошо используют в качестве единственного источника углерода также соли молочной кислоты. Слабое развитие культур наблюдается в синтетической среде с уксусной кислотой, однако добавление пептона несколько усиливает использование последней.

На основании полученных данных мы первоначально предположили, что имели дело с представителями группы кишечной палочки, близкими к типу Bact. citrovorum или Bact. aerogenes. Поэтому были проведены дополнительные исследования, которые показали, что наши культуры при развитии в МПБ не образуют индола, не дают положительной реакции Вогес-Проскауэра или с метиловым красным и не растут на среде Кесслера. На среде Эндо наблюдается слабый рост у культур, недавно выделенных из молочных продуктов, и не отмечается роста у культур, длительно перевивавшихся на МПБ с молочной кислотой. Культуры чувствительны к фенолу и могут развиваться на МПА при добавлении фенола в разведении 1 : 2000, и только небольшая часть культур переносит более высокие концентрации — до 1 : 1500. Ни одна культура не развивается при добавлении к средам фенола в разведении 1 : 1000, тогда как молочнокислые стрептококки при этой концентрации фенола росли хорошо. Кроме того, на МПБ они не образуют аммиака и сероводорода.

В дальнейшем такие признаки, как резкая ацидофильность, морфологические особенности (инволюционные формы на некоторых средах), а также способность довольствоваться аммонийными солями в качестве единственного источника азота натолкнули нас на мысль, не принадлежат ли наши культуры к уксуснокислым бактериям. Как известно, отличительной особенностью уксуснокислых бактерий является их способность к окислению этилового спирта в уксусную кислоту.

У всех исследованных культур была проверена способность к окислению этилового спирта в уксусную кислоту, первоначально при добавлении 1% спирта в молоко (температура 30°). Через два-три дня после постановки опыта во всех колбах с этиловым спиртом молоко свернулось и появился резкий запах уксуса.

[1] Na_2HPO_4 — 0,2%; KH_2PO_4 — 0,5%; $MgSO_4$ — 0,1%; NaCl — 0,1%; хлорное железо — 0,001%; хлористый и сернокислый аммоний — 0,01%.

Таблица 3

Использование молочной кислоты и глюкозы «подвижными стрептококками» (возраст 6 дней, температура 30°)

№ п/п	Среда	Контроль		Культура № 3				Культура № 4				Культура № 5			
		кислотность в °С	pH	кислотность в °Т	разница по сравнению с контролем	pH	разница по сравнению с контролем	кислотность в °Т	разница по сравнению с контролем	pH	разница по сравнению с контролем	кислотность в °Т	разница по сравнению с контролем	pH	разница по сравнению с контролем
1	Синтетическая	21	6,91	21	0	6,81	—0,1	20	1	6,9	0	21	0	6,88	0
2	Синтетическая + 1% глюкозы	21	6,89	36	+15	5,61	—1,28	32	+11	6,11	—0,78	55	+34	3,97	—2,92
3	Синтетическая + молочная к-та	44	5,55	24	—20	6,73	+1,21	23	—21	6,65	+1,13	24	—20	6,63	+1,11
4	Синтетическая + пептон (0,5%)	22	6,81	23	+1	6,83	0	22	0	6,82	0	22	0	6,78	0
5	Синтетическая + пептон + + глюкоза 1%	21	6,84	46	+25	4,43	—2,38	34	+13	6,04	—0,77	54	+33	4,29	—2,52
6	Синтетическая + пептон + + молочная к-та	43	5,59	25	—18	6,70	+1,11	23	—20	6,75	+1,16	26	—17	6,68	+1,09
7	Синтетическая + печеночный экстракт 0,01% + глюкоза 1%	21	6,89	33	+12	6,02	—0,87	33	+12	6,07	—0,82	—	—	—	—
8	Синтетическая + печеночный экстракт + молочная к-та	44	5,53	25	—19	6,70	+1,25	23	—21	6,67	+1,14	—	—	—	—

Определение летучих кислот с последующей разгонкой по Дюкло показало наличие в молоке значительного количества уксусной кислоты.

Проверка способности культур к окислению этилового спирта в уксусную кислоту в сусле 7° Балг. с разными количествами спирта подтвердила полученные данные.

Установив, что выделенные нами культуры способны окислять этиловый спирт в уксусную кислоту, мы провели вторичную «очистку всех культур» путем трехкратного рассева с одной чашки Петри на другую

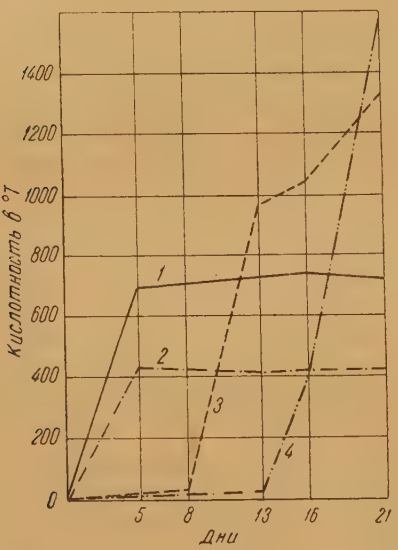


Рис. 1. Окисление этилового спирта в уксусную кислоту (культура № 2)

1 — сусло + 6% этилового спирта, *2* — сусло + 3% этилового спирта, *3* — сусло + 9% этилового спирта, *4* — сусло + 11% этилового спирта

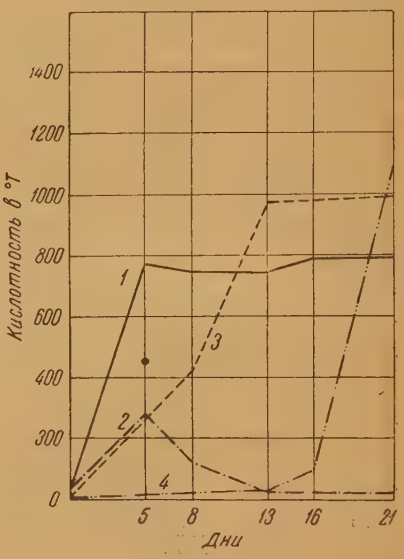


Рис. 2. Окисление этилового спирта в уксусную кислоту (культура № 3)

1 — сусло + 6% этилового спирта, *2* — сусло + 3% этилового спирта, *3* — сусло + 9% этилового спирта, *4* — сусло + 11% этилового спирта

на синтетической среде (состав указан ранее), где единственным источником азота являлись аммонийные соли, а углерода — этиловый спирт в количестве 4%. После подобной «очистки» свойства культур не изменялись.

Дальнейшее изучение культур проводилось на сусле 7° Балг. Изучалась способность культур: 1) к развитию на сусле при разных концентрациях спирта; 2) к окислению этилового спирта в уксусную кислоту; 3) сопротивляемость культур по отношению к уксусной кислоте и 4) характер пленки на сусле с этиловым спиртом.

1. Исследования показали, что культуры могли развиваться при высоких концентрациях спирта до 8—12%. Наблюдалось явление «привыкания» культур к высоким концентрациям спирта, когда культуры, не дающие роста на сусле с 10—11% спирта, через 10—15 дней начинали на нем развиваться (рис. 1 и 2).

Можно было заставить культуры расти на сусле с 12% спирта путем перенесения пленки из среды с более низким содержанием спирта (10%), где они развивались, в колбочки с 12% спирта (рис. 3).

2. Культуры активно окисляли этиловый спирт в уксусную кислоту. Одни из них давали до 5% уксусной кислоты, другие — 9,6%. В большинстве случаев высокие количества уксусной кислоты получались на средах при концентрации спирта 10—12% (рис. 1, 2 и 3).

Неоднократно мы отмечали явление «переокисления», особенно часто это наблюдалось в сусле с низкими концентрациями этилового спирта —

1—3% (рис. 2). При низких концентрациях спирта культуры быстро наращивали кислотность, а затем у некоторых из них отмечался процесс столь же быстрого разрушения уксусной кислоты. При более высоких концентрациях спирта явления переокисления не наблюдалось. Появление процесса «переокисления» в значительной мере зависело от реакции среды и свойств культур. Эти данные подтверждают соответствующие указания Дратвиной [4] и Шапошникова [9].

3. Несмотря на то что культуры хорошо переносят постепенное накопление в субстрате значительных количеств кислоты — до 9,6%,

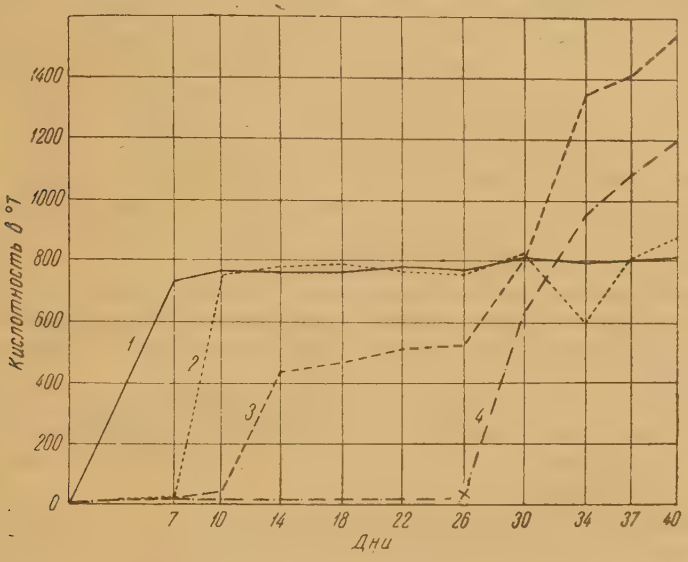


Рис. 3. Окисление этилового спирта в уксусную кислоту (культура № 8)

1 — сусло + 6% этилового спирта, *2* — сусло + 8% этилового спирта, *3* — сусло + 10% этилового спирта, *4* — сусло + 12% этилового спирта ×— добавлена пленка культуры из колбы с 10% этилового спирта

при пересеве их на новый субстрат с добавлением даже 2—3% уксусной кислоты никакого развития иногда получить не удается. Однако у некоторых культур можно было отметить явление «привыкания», как и в случае с этиловым спиртом. Заражая субстраты с высокими концентрациями уксусной кислоты пленками из субстратов с более низкими количествами кислоты, где они развивались, нам удавалось добиться роста у некоторого количества культур даже при 8,3% уксусной кислоты. Все эти данные указывают на довольно быструю приспособляемость культур к изменившимся условиям среды.

Важным моментом для идентификации уксуснокислых бактерий является характер образуемой ими пленки на сусле с этиловым спиртом. У всех выделенных нами культур пленка довольно легко разрывалась. Культура № 4 давала пленку, поднимающуюся вверх по стенке колбы на 10 см и более, по данному признаку она напоминала Acetobacter ascendens. У других культур пленка не поднималась по стенкам колб или поднималась слабо. У культур с удлиненными клетками (№ 6, 7 и 8) пленка была более прочной и имела желтоватый оттенок. На средах с молочной кислотой пленка у всех культур была более прочной и слизистой.

Полученные нами данные показывают, что «подвижные стрептококки» Королева, «подвижные диплококки» Богданова, «О-мукоидные формы» молочнокислых бактерий Палладиной и «подвижные протеолитические бактерии» Гибшман в действительности являются уксуснокислыми бактериями, близкими к типичным уксуснокислым бактериям

Acetobacter aceti, а возможно, и скорого способа производства уксуса.

Однако уксуснокислые бактерии, выделенные из молочных продуктов, отличаются от типичных уксуснокислых бактерий, описанных в литературе, следующими признаками: способностью к разложению белков молока, к использованию молочной кислоты и ее солей в качестве единственного источника углерода (даже при таком источнике азота, как соли аммония), образованием на поверхности сгустка молока оранжево-желтого окрашивания, при совместном культивировании их с молочнокислыми бактериями. Этот оранжевый пигмент у «О-мукоидных форм» молочнокислых бактерий, по указанию Палладиной, представляет окисленную форму флавина. По нашим данным, *о*-мукоидные формы молочнокислых бактерий в действительности являются уксуснокислыми бактериями. Следовательно, все сказанное о мукоидных формах в отношении синтеза флавина относится и к уксуснокислым бактериям.

Уксуснокислые бактерии, выделенные из молочных продуктов, отличаются также по морфологическим признакам: все они подвижные перитрихи, тогда как, по литературным данным, уксуснокислые бактерии имеют полярный жгутик (Красильников [6]).

Некоторые культуры уксуснокислых бактерий, выделенных нами из молочнокислых продуктов, уже в течение пяти лет культивируются в МПБ с молочной кислотой и не утратили способности к окислению этилового спирта в уксусную кислоту.

При совместном развитии в молоке молочнокислых и уксуснокислых бактерий и хранении смешанной культуры без пересевов бактерии сохраняют свою жизнеспособность в течение длительного времени (до 12 месяцев при 16—20°).

Биохимическая активность смешанной культуры значительно выше, чем ее компонентов в отдельности (табл. 4).

Таблица 4

Биохимическая активность заквасок разных типов

(в молоке)

Наименование закваски	Кислотность	Летучие кислоты в 100 мм дестиллата	CO_2 в 1 л дестиллата	Протеолитич. активность в молоке с мелом (через 15 дней при 30°)
	через 48 часов при 30°			
Обычная закваска для мелких сыров (молочнокисл. бактерии)	125	2,8	9,0	23,0
То же, но с добавлением уксуснокислых бактерий	150	5,0	11,5	45,5

Эти данные указывают на симбиотический характер взаимоотношений между молочнокислыми и уксуснокислыми бактериями. Этим же объясняется некоторая трудность разделения смешанных культур при высеве их на обычный МПА или другие среды (при pH = 7), так как во многих случаях вырастают в одной колонии молочнокислые и уксуснокислые бактерии. Тесное взаимоотношение между молочнокислыми и уксуснокислыми бактериями, повидимому, объясняет довольно широкое распространение последних в молочных продуктах.

Для сопоставления свойств разных культур уксуснокислых бактерий мы получили от Шаинской [2] 9 культур типичных уксуснокислых бактерий, активных кислотообразователей, дающих от 7,5 до 11,6% уксусной кислоты.

Типичные уксуснокислые бактерии развивались в сусле с высокими концентрациями этилового спирта несколько медленнее, чем культуры, выделенные из молочных продуктов.

При развитии в молоке совместно с молочнокислыми бактериями уже при первом пересеве три культуры из 9 полученных дали на поверхности сгустка молока (через 5—8 дней) оранжево-красноватое окрашивание. На МПА с молочной кислотой они давали слабый рост, а около колоний появлялась беловато-опаловая окраска. Они оказались перитрихами, но выяснилось, что их жгутики были своеобразно скручены.

По указанным причинам эти три культуры напоминали уксуснокислых бактерий, выделенных из молочных продуктов, но отличались тем, что не разлагали белков молока и, кроме одной культуры (Ia), не использовали молочной кислоты. Дальнейшие наши исследования показали, что типичные уксуснокислые бактерии при совместном и длительном культивировании в молоке с молочнокислыми бактериями (в течение 4 месяцев) приспосабливаются к новым для них условиям среды и постепенно приобретают новые свойства.

Такие бактерии начинали слабо затрагивать молочную кислоту (в синтетической среде), что проявлялось в понижении титруемой кислотности и pH, а у одной культуры (Ia) эта способность значительно возросла.

Все культуры при развитии в молоке с молочнокислыми бактериями давали оранжевое окрашивание на поверхности сгустка, но у четырех культур уксуснокислых бактерий это наблюдалось при развитии с любыми штаммами молочнокислых бактерий, а у пяти — только с единичными. При развитии в молоке совместно с молочнокислыми бактериями они усиливали способность к протеолизу и начали подщелачивать МПБ.

Нахождение уксуснокислых бактерий в молочных продуктах не является новым. Об этом имеются указания у Алеева [1], Геннеберга и др. Однако в литературе мы не встретили данных об особенностях свойств уксуснокислых бактерий, выделенных из молочных продуктов, и характере взаимоотношений между молочнокислыми и уксуснокислыми бактериями.

На работы советских микробиологов, связанные с данным вопросом, было указано выше.

В проведении экспериментальной работы участвовали научные сотрудники Н. С. Королева и Н. Н. Белоусова.

Выводы

1. Установлено, что подвижные бактерии, выделенные из молочнокислых продуктов и описанные в отечественной литературе под разными наименованиями — «подвижные стрептококки» Королева, «подвижные диплококки» Богданова, «Подвижные протеолитические бактерии» Гибшман, «О-мукоидные формы» молочнокислых бактерий Палладиной, в действительности являются уксуснокислыми бактериями.

2. Уксуснокислые бактерии, выделенные из молочных продуктов,— подвижные перитрихи, короткие, а иногда более длинные грамотрицательные палочки, одиночные или соединенные парами или в короткие цепочки. Они часто напоминают по форме клеток молочнокислые стрептококки.

[2] Из лаборатории уксусного брожения Всес. научно-иссл. ин-та консервной промышленности.

На поверхности жидких сред образуют пленку более или менее прочную, у некоторых культур поднимающуюся вверх по стенке колбы на 10—15 см. Колонии блестящие, маслянистые, желтоватые, часто амебовидные или с выростами. Желатину не разжижают, образуют каталазу, некоторые культуры восстанавливают нитраты и нитриты. Из углеводов сбраживают с образованием нелетучих кислот только глюкозу и частично пентозы и галактозу. Оптимальная температура для развития 30°. Способны развиваться в синтетической среде, где единственным источником азота являются аммонийные соли, а углерода — молочная кислота или глюкоза. Они способны разлагать белки молока. Эти бактерии на поверхности сгустка молока при совместном культивировании с молочнокислыми бактериями дают оранжево-желтое окрашивание. Они окисляют этиловый спирт в уксусную кислоту и являются активными кислотообразователями, давая до 9,6% уксусной кислоты.

Могут развиваться в сусле при высоких концентрациях этилового спирта — до 12%. Устойчивы по отношению к уксусной кислоте. По своим свойствам они близки к типичным уксуснокислым бактериям — разновидностям Acetobacter aceti, а возможно, и бактериям скорого способа производства уксуса. Отличаются от них способностью разлагать белки молока и использовать молочную кислоту.

3. Взаимоотношения между уксуснокислыми бактериями, выделенными из молочных продуктов, и молочнокислыми бактериями носят, повидимому, симбиотический характер, чем и объясняется способность смешанных культур сохраняться в молоке без пересевов в течение длительного времени (до 12 месяцев) и бóльшая биохимическая активность смешанной культуры, чем ее компонентов в отдельности. Этим же объясняется трудность разделения компонентов при высеве смешанной культуры на МПА (pH = 6,8—7,0), так как во многих случаях вырастают в одной колонии молочнокислые и уксуснокислые бактерии.

Всесоюзный научно-исследовательский институт сыродельной промышленности г. Углич

Получено 16. VI. 1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алеев В. С. Введение в техническую микробиологию. Часть I. Пищепромиздат, стр. 153, 1944.
2. Богданов В. М. Явление тягучести в заквасках. Микробиология, VI, 805, 1937.
3. Гибшман М. Р. Симбиоз молочнокислых стрептококков с подвижными протеолитическими бактериями. Микробиология, XIV, 403, 1945.
4. Дратвина Т. В. Окисление уксуснокислыми бактериями спирта и уксусной кислоты в зависимости от pH и других условий. Микробиология, VI, 468, 1937.
5. Королев С. А. Основы технической микробиологии молочного дела. Сельхозгиз, стр. 200, 1932.
6. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, 1949.
7. Палладина О. К. Биология возбудителей молочнокислого брожения. Пищепромиздат, 1941.
8. Рудометкина А. И. Сибирские пептонизирующие молочнокислые расы типа Str. lactis. Молочная промышленность, вып. 6, стр. 27, 1936.
9. Шапошников В. Н. Техническая микробиология. Изд. Советская наука, стр. 165, 1947.
10. Conn H. and Wolfe G. Flagella. Staining as a Routine test for Bacteria. J. Bact., 36, 517, 1936.

НОВЫЙ ВИД ГРИБА ENDOMYCES ASCOSPORUS

А. А. Бачинская и *А. А. Кондратьева*

Весной 1937 г. из моченых яблок и летом того же года из свежей капусты нами были выделены две культуры гриба, оказавшиеся при дальнейшем их исследовании идентичными. Некоторые этапы истории развития этих грибов оказались настолько интересными, что было решено изучить их более детально.

Грибы этого рода весьма широко распространены в природе. Их можно найти в почве, в молоке, на фруктах, овощах и на ряде продуктов, изготовляемых при помощи засола и других способов консервирования. Кроме того, они найдены в секретах и экскретах организма человека, при разнообразных заболеваниях кожи и внутренних органов. Очень легко выделить их из разных сортов простокваши, где на поверхности жирового слоя они образуют красивые бархатистые, звездчатые колонии. Эти колонии состоят из настоящего трубчатого мицелия с довольно редкими перегородками, концевые и боковые ветвления которого в дальнейшем распадаются на отдельные четырехугольные, короткие сегменты — оидии, являющиеся вегетативными органами размножения гриба. Такой довольно упрощенный способ размножения (оидиями) и послужил для ряда авторов основанием для присвоения подобным грибам родового названия Oidium, а отсутствие других, более совершенных органов размножения заставляло авторов относить их к группе несовершенных грибов Fungi imperfecti. Так как старый мицелий этих грибов может образовать еще и артроспоры — толстооболочные формы покоя, то Вильемен (Vuillemin [4]) в предложенной им систематике вносит их в семейство Arthrosporiae в группу Thallosporeae (медицинская номенклатура, принятая позднее рядом авторов). Таким грибам давали различные названия — Geotrichum, Oosporidea, Mycoderma, Oidium.

Найденные нами грибы по своим морфологическим и культуральным свойствам отличаются от перечисленных тем, что в цикле их развития наблюдается образование спор в сумках, что дает возможность включить их в группу сумчатых грибов Ascomycetes.

Обе культуры наших грибов были выделены из одной клетки (оидии).

Рост культур изучен при температуре 22—24° на следующих плотных и жидких средах: жидкое 7° Балг; 2%-ный сусло-агар; 12%-ная сусло-желатина; 2%-ный мясо-пептонный агар — мясо-пептон — бульон; 2%-ная и 12%-ная мясо-пептонная желатина; 10%-ная картофельная вода; 2%-ный картофельный агар и такой же агар с 2% глюкозы; молоко и картофель. Испытание на сбраживание сахаров проводилось обычным способом.

История развития изученных организмов наблюдалась в висячих каплях жидких сред (сусло и картофельная вода) и плотных — сусло-агар и сусло-желатина.

Ниже приводим описание их культуральных, морфологических и биологических свойств.

Рост на питательных средах

Микроорганизмы быстро и пышно развиваются на всех перечисленных выше средах, давая однообразные, вначале едва заметные, ветвистонитевидные, тусклые налеты.

Позднее налеты становятся пушистыми, сначала беловатого, потом серовато-беловатого или серовато-буроватого цвета (в зависимости от окраски среды). Поверхность роста тусклая, пушок невысокий, при старении культура как бы оседает и поверхность ее становится еще более матовой.

На жидких средах грибы образуют на поверхности жидкости толстые желтоватые, с трудом разрываемые пленки, которые позднее также покрываются сероватым низким пушком. Жидкость под пленками не мутнеет. На дне сосудов также могут развиваться крупные, пушистые нитевидные хлопья.

Организмы предпочитают сусловые и сахарные среды, слабо развиваясь на мясо-пептонных. Желатину они не разжижают, молока не свертывают, но прорастают до дна пробирки с молоком, образуя трудно разрываемый клубок мицелия.

Отношение к углеводам

Выделенные нами организмы не обладают бродильной способностью. В растворах 3—5%-ной глюкозы, левулезы, мальтозы, сахарозы, лактозы, галактозы, маннита образования газа не происходит. Нет также и образования кислоты (лакмусовая среда не меняет синеватого цвета).

Гигантские колонии

При посеве в колбочки на сусло-агар рост колонии имеет вид тусклой, нитчато-ветвистой, ирризирующей, правильно-лучевой звезды, очень быстро распространяющейся по всей поверхности среды. Уже через сутки колония становится серовато-белой и слегка пушистой. Нити мицелия, ветвящиеся под углами, придают поверхности колонии радиально-штриховатую исчерченность. Старые колонии месячного возраста серовато-белые имеют радиальную, мелкопетлистую поверхность, бархатисты, тусклы, а еще более старые — как бы посыпаны мукой.

При микроскопическом исследовании молодые колонии (суточные) $1^1/_2$ см в диаметре, в средней части темные, краевая часть их состоит из радиально растущих гиф, одинаковых по толщине и вначале прямых. Уже к концу первых суток концы нитей принимают разнообразный вид, становятся то слегка булавовидно вздутыми, то двух- и трехвильчатыми. На 2—3-е сутки гифы в новых кольцах роста тоньше, слегка волнисты, а более молодые имеют еще меньший диаметр.

Редко посеянные колонии в чашках Петри на седьмой день достигают размеров $2{,}5 \times 2{,}5$ и 7×7 см.

На поверхности их ясно видны почти одинаковые круги нового роста шириной около 3 мм. Средняя часть колонии узорчата (радиально-ветвиста), более компактна, краевая зона прозрачна.

Морфологические особенности

Вегетативное тело грибов (в 2—3-суточных культурах) состоит из мицелиальных, трубчатых нитей шириной 6—9 μ, разной длины. Молодые побеги прозрачны с однородной плазмой и тонкими оболочками. В препаратах при больших увеличениях можно найти ряд стадий постепенно возникающего ветвления молодых побегов, от незначительного

вздутия концов нитей до появления двух- и трехзубчатых вилок (рис. 1, *a*, *b*). Позднее под ветвлениями и выше их появляются поперечные, прямые перегородки, разделяющие нити мицелия на сегменты. При дальнейшем росте мицелия возникают боковые побеги, чаще всего под перегородками (рис. 1, *c*, *c*), но иногда и на средних частях сегментов. Перегородки в молодых нитях мицелия образуются без какой-либо закономерности и при разрастании мицелия отодвигаются, образуя сегменты разной длины. Верхние части сегментов старого мицелия несколько расширяются, напоминая узлы бамбука (рис. 1, *d*, *d*).

При приготовлении препарата нити мицелия разламываются по узлам на сегменты разной длины.

Уже в конце первых суток роста культуры в ней возникают вегетативные органы размножения. На концевых частях молодых боковых побегов одновременно возникают ряды частых перегородок на правильных, приблизительно одинаковых расстояниях одна от другой, разделяющих конец нити на ряд коротких четырехугольных участков размером 6×6 μ (рис. 1, *e*, *f*, *g*), из которых позднее образуются ряды сначала плотно соединенных между собой клеток (оидии, споридии, конидии, артроспоры). В дальнейшем эти ряды клеток несколько раздвигаются, образуя цепочки из коротких прямоугольников, с как бы обрезанными концами. Далее подобные клетки отходят друг от друга, закругляют свои концы и становятся довольно часто под углами, образуя ломаные цепочки, которые рассыпаются или на отдельные клетки, или на более короткие, такие же ломаные или прямые цепочки из небольшого числа клеток (рис. 1, *f*, *g*, *g*).

Этого типа элементы имеют оболочки такой же толщины, как и породивший их мицелий, содержимое их также гомогенно, с несколькими мелкими вакуолями и небольшим количеством мелких жировых капелек. Они могут быть названы первичными оидиями. В дальнейшем образование вегетативных органов размножения на новых побегах идет также путем сегментации концевых частей мицелия, но вторично образующиеся цепочки состоят из клеток с более толстыми черноватыми оболочками и более зернистым содержимым.

Более ранние из этих клеток по размерам близки к первичным, но более поздно образующиеся (из тонких ветвей) — меньше. Оболочки их более утолщены, и они ближе к артроспорам, описанным Ланжерон и Талис (Langerron et Talice [2]). Это вторичные оидии (рис. 1, *h*). При распаде клетки из этих цепочек могут не только закруглять концы, но и совершенно округляться, принимать форму бочонков и давать грушеподобные выросты. Наконец, на совершенно старом мицелии образуются еще одного типа клетки, сидящие или непосредственно на нитях мицелия, или на выростах его, под перегородками, грушевидной формы с толстыми оболочками, с зеленоватой, компактной плазмой с 1—2 капельками жира. Возникают они или самостоятельно, или из клеток, ближайших к породившему их мицелию (оидиальных вторичных цепочек), после того как концевые клетки-цепочки уже отпали. Иногда они могут возникать целым букетом. По своей структуре эти третичные образования могут считаться концевыми артроспорами (рис. 1, *i*, *i*).

При образовании вышеуказанных вегетативных органов размножения содержимое их конденсируется, переливаясь из нижележащих сегментов мицелия, но старый мицелий не пустеет. По стенкам его сегментов располагается прозрачный слой гомогенной плазмы, соединенной от стенки к стенке тончайшими нитями, с прозрачными, большими, удлиненными вакуолями и небольшим количеством капелек жира. Надо отметить, что при образовании первичных оидий не вся нить (отходит ли она из-под перегородки или от боковой части сегмента мицелия) разбивается на оидии. Часть нити, непосредственно отходящая от материнской, является как бы подставкой (рис. 1, *k*, *k*), несущей оидии, что, вероятно,

Рис. 1. Endomyces ascosporus nov. sp.

a, *b* — старые септированные и молодые; 2—3 разветвленные концевые нити мицелия; *c* — возникновение побегов под перегородками; *d* — вздутие мицелия под перегородками (узлы бамбука); *e*, *ε* — разные стадии образования первичных оидий (артроспор — по терминологии некоторых авторов); *f*, *g* — сдвиг оидий в цепочках и цепочки из опавших оидий; *h* — вторичные толстостенные оидии (артроспоры); *i*, *i* — концевые оидии (артроспоры); *k*, *k*, *k* — подставки оидиальных нитей — конидиеносцы; *l*, *m*, *n* — разные типы оидий (артроспор); *l*, *m* — интеркалярные, *n*, *n* — концевые; *o*, o_1, o_2 — образование гемм и их прорастание в нитях мицелия; *p* — опавшие аски с шиповатыми спорами; p_1, p_2, p_3 — образование асков на старых, молодых и особых нитях (боковых выростах) мицелия, вторичное септирование перед половым процессом; α, α, α — половые почки на участках вторичного септированного мицелия; β, β, β — мужские половые органы (антеридии); δ, δ, δ — женские половые органы (архегонии), превращающиеся в аски с разными стадиями созревания спор; ε, ε — половой процесс, слияние антеридия с архегонием; p_4, p_4 — партеногенетическое образование спор в нитях мицелия; *q*, *q* — партеногенетическое образование спор на базальной клетке отдельной цепочки; *r* — гроздья асков с партеногенетически образовавшимися спорами; *s* — антеридии, мужские половые органы, не выполнившие своего назначения — под конец погибающие

и послужило Линку (Link [3]), впервые описавшему подобный организм, поводом назвать эти органы размножения конидиями, а подставку сравнить с конидиеносцем. Позднее (2—3-е сутки роста мицелия), сегментация нитей, ведущая к образованию оидий, доходит почти до материнской клетки, вследствие чего «конидиеносец» оказывается очень коротким и базальная оидия может сидеть прямо на породившей ее нити. Из базальных клеток этих цепочек в старых культурах и возникают весьма часто третичные образования — концевые артроспоры четырехугольной или округлой формы в количестве 1, 2. В последнем случае они сидят одна на другой (рис. 1, *n*, *n*). В длинных нитях мицелия между перегородками его может скопляться плазма в виде участков разных размеров. Подобные участки окружаются толстыми оболочками, образуя по ходу мицелия вегетативные органы покоя — интеркалярные артроспоры или хламидоспоры (рис. 1, *l*, *l*, *m*). Этого рода клетки могут быть разных форм и размеров — четырехугольные, овальные, круглые, гиреобразные и неправильно вздутые. Оболочки всех типов артроспор несколько буроваты, плазма сначала гомогенна, потом мелкозерниста с каплевидными включениями, в очень старых — вакуолизована и содержит крупные капли жира. Иногда в нитях старого мицелия, в длинных сегментах, содержимое разбивается на очень большое число клеток, лежащих то в один ряд (приблизительно одинакового размера числом до 12) (рис. 1, *o*, *o*), то смещенно, разных размеров — крупных и мелких, иногда тут же прорастающих (рис. 1, o_1 — o_2), числом до 26 и более; оболочки клеток этого типа также несколько утолщены, содержимое их однородно, с несколькими каплями жира. Это также покоящиеся клетки типа хламидоспор, служащие для вегетативного размножения, аналогичные таковым, наблюдающимся у многих грибов и между прочим у мукоровых. Так как форма их и размеры разнообразны, то подобные образования скорее могут быть отнесены к геммам.

Образование гемм наблюдалось в значительном количестве вскоре после выделения грибов, при культивировании их на сусло-агаре.

Прорастание вегетативных органов, размножение оидий и артроспор

Попадая на свежую питательную среду, вегетативные органы размножения всех трех вышеуказанных типов прорастают. Прорастание начинается с набухания клетки, просветления плазмы и появления нескольких более крупных вакуолей. Клетка или сохраняет свою четырехугольную с закругленными концами форму, или становится более овальной, округлой (рис. 2, *a*, *b*) и дает одну-две, реже больше, ростковых трубочек, постепенно разрастающихся в мицелиальную нить, полную гомогенной прозрачной плазмой (рис. 2, *c*). Если питательной среды мало (висячие капли), то нити быстро начинают давать перегородки, сначала на неравных, более далеких расстояниях, а позднее на концах нитей, на близких, равных, образуя первичные оидии. Если питательной среды много (в чашках Петри), то ростковые трубки разрастаются в длину и ширину, ветвятся, образуя в мицелии далеко отстоящие перегородки, на неравных расстояниях, и как указано было выше, на концах боковых нитей цепочки оидий.

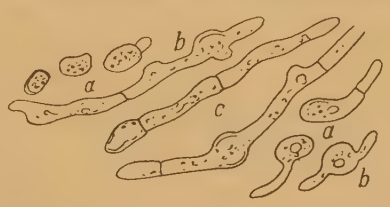


Рис. 2. *a*, *b*, *c* — разные стадии прорастания оидий (артроспор)

Образование спор

Помимо вегетативных органов размножения — первичных, вторичных и третичных оидий — артроспор, концевых и интеркалярных (последние образуются по ходу мицелия) и гемм, эти две культуры интересны тем,

что обладают способностью образовывать настоящие толстооболочечные споры в сумках — асках (рис. 1, *р*).

Процесс, ведущий к спорообразованию, начинается на третьи сутки в глубине культуры (штриховой посев), на материнских прозрачных нитях (сегментах) мицелия (рис. 1, *р*, p_1, p_2). Позднее он переходит и на более молодые его части (рис. 1, p_2, p_2), а еще позднее и на особые, разной толщины нити (рис. 1, p_3, p_3), вновь образующиеся как на старых, так и на молодых гифах мицелия, около его перегородок. Эти особые нити имеют вид выростов разной толщины, ветвящихся и наполненных зеленоватой, густой, мелкозернистой, с многочисленными капельками жира плазмой (рис. 1, *р*, β). Процесс, заканчивающийся спорообразованием, протекает следующим образом. В длинных сегментах первичного мицелия, с прозрачной пристенной плазмой, производящих впечатление запустевших и отмирающих, возникает ряд частых перегородок, делящих сегмент на ряд коротких, более или менее одинаковых клеток (рис. 1, p_1, p_1). На стенках этих клеток возникают сначала мелкие, позднее разрастающиеся выросты. Вначале плазма этих выростов прозрачна и иногда содержит одну-две очень мелкие капельки жира. Одни из этих выростов увеличиваются в размерах сравнительно незначительно, сохраняя свою форму, другие (рис. 1, p_1, α, α, α) образуют разной длины узкие трубочки, концы которых загибаются крючком или образуют дуги (рис. 1, p_1, β, β, β), третьи разрастаются в разных размеров мешки, неправильно грушевидной или шаровидной формы, сидящие на узких, разной длины ножках (рис. 1, p_1, δ, δ, δ). Плазма мелких почковидных выростов исчезает, и они становятся пустыми. Плазма крючковидных и дуговидных образований собирается в конце крючков или дуг, становится зеленоватой, зернистой и отделяется от ножки перегородкой, находящейся непосредственно под частью, наполненной плазмой (рис. 1, *р*, β). Плазма грушевидных и шаровидных выростов собирается сначала мелкими капельками, распределяющимися по всей клетке равномерно (рис. 1, δ, δ). Позднее в средней части плазменной массы обособляется крупная капелька жира, плазма собирается в комок, по поверхности которого венком лежат мелкие капельки. На поверхности комка начинают отлагаться утолщенные участки будущей оболочки, позднее сливающиеся (явление, наблюдающееся и при образовании спор у различных дрожжей) (Бачинская [1]).

Позднее оболочка утолщается, темнеет, становится буроватой и под конец на ней возникают выросты в виде редких бугорков (шипики). Таково образование споры в аске (рис. 1, *р*). Споры лежат в средней его части или несколько наискось, выполняя аск почти на $^3/_4$ (рис. 1, *р*). Иногда при их созревании в асках видны остатки зернистой с капельками жира эпиплазмы, позднее исчезающей, и аск вокруг споры становится совершенно прозрачным. Размеры спор в зависимости от размера аска варьируют от 5×5 до 25×25 μ. Форма спор круглая или слегка овальная. При созревании споры под расширенной частью аска также образуется перегородка. Таким образом, грушевидно или шаровидно разрастающиеся образования являются настоящими асками, образующими эндогенные споры. На члениках старого сегментировавшего мицелия вырастают два вздутия (рис. 1, p_1), одно в виде маленькой запустевающей почки, другое развивающееся в грушевидный или шаровидный аск, после того как пустеет маленькая почка. Содержимое этой почки переливается в грушевидную клетку с плазмой материнского сегмента. Хотя плазма прозрачна, но в ней имеются небольшие капельки жира, исчезающие и из маленькой почки, и из материальной клетки и собирающиеся в грушевидном выросте. Число их здесь увеличивается, прозрачная плазма становится зернистой, постепенно превращаясь в спору. Маленькая почка и материнская клетка совершенно запустевают.

Но, помимо только что описанного процесса, наблюдается еще и непо-

средственное слияние крючкообразной или дуговидной части трубчатых выростов с верхними разрастающимися частями грушевидных или шаровидных образований (рис. 1). В этих случаях слияние происходит между выростами или одной и той же (рис. 1, δ), или двух соседних клеток (рис. 1, ε), из которых одна является оплодотворяемым аском, а другая оплодотворяющим крючкообразным элементом, переливающим в аск содержимое крючка, отделенного перегородкой от своей удлиненной ножки. Возможно и слияние двух выростов, мало разнящихся по своей форме и размерам (рис. 1, рис. 1, γ) и из которых позднее одна дорастает до размеров аска. Иногда оплодотворяющая клетка вырастает на ножке уже вздувшегося аска и прилегает к его боковой части, переливая в него содержимое, после того как под оплодотворяющей (крючковидной или дуговидной) частью и под широкой грушевидной или шаровидной оплодотворяемой образовались перегородки (рис. 1, ε). Такие типы слияния плазмы органов, вырастающих и на одной и той же клетке, и на разных, соседних, заканчивающиеся образованием споры, указывают несомненно на наличие полового процесса у описываемых грибов — с ясно обозначенными признаками мужского и женского элементов. Слияние мужского выроста, развивающегося на ножке женского, аналогично половому процессу у Pythium (Oomycetes), у которого антеридий сидит на оогонии; оплодотворение и у наших грибов, как и у Pythium, заканчивается образованием одной споры.

Но так как указанный половой процесс протекает на септированном мицелии, то он напоминает собой половой процесс, наблюдаемый у грибов рода Endomyces. Грибы родов Endomyces и Geotrichum довольно близки, у обоих наблюдается наличие трубчатого, септированного мицелия и образование вегетативных органов размножения — оидий, но оидии Endomyces своеобразной формы, с более закругленными углами, чем таковые у Geotrichum.

Кроме полового процесса, который описан выше, у найденных нами грибов наблюдаются еще и партеногенетические образования спор. Они возникают и внутри клеток материнского мицелия, и в сегментах бокового разных возрастов ветвления (рис. 1, p_4, p_4) и в особых одиночных выростах на верхних и боковых частях мицелиальных сегментов (рис. 1) и, наконец, могут развиваться или в базальных клетках оидиальных цепочек, или в особых выростах из ножек, несущих цепочки оидий (рис. 1, *q*).

Иногда на побегах верхней части материнского сегмента базальной клетки цепочки оидия аски сидят целыми гроздями в количестве 4—5 (рис. 1, *r*).

Если аски развиваются на ветвистых боковых выростах в верхних частях материнского сегмента (рис. 1, p_3, p_3), то эти выросты, сравнительно тонкие, около 2—3 μ в диаметре, вначале содержат прозрачную плазму, которая позднее становится матовой, зернистой и накопляет большое количество мелкозернистых жировых капелек.

Еще позднее плазма становится зеленоватой, постепенно переливается в концы боковых веточек; далее концы веточек также грушевидно вздуваются, превращаясь в аски, сидящие на ножках разной длины, иногда септированных. Споры в подобных вздутиях развиваются или партеногенетически, или также после оплодотворения архегония развивающимся антеридием, на общей для обоих ножке. Размеры их уже указаны выше и ничем не отличаются от спор, образовавшихся на первичном мицелии. Многие из выростов, развивающихся в крючковидно загнутые трубочки (рис. 1, β, β) (антеридии), не сливают своих половых продуктов с женскими образованиями (оогониями) и под конец, несмотря на то, что в концевых их крючках накопляется зернистая плазма, отваливаются и погибают.

Таким образом, описанные нами грибы можно кратко характеризовать следующим образом.

Организм развивается сначала, как мицелиевидный гриб с хорошо развитыми нитями; на поверхности колонии имеется налет воздушных веток, как у гриба из рода Geotrichum. Нити мицелия распадаются при помощи поперечных перегородок на короткие клетки — оидии. Почкования клеток не наблюдается. Имеются клетки типа артроспор или хламидоспор.

У организма отмечается образование спор. Споры формируются в специальных клетках — асках, по одной в каждой. Спорообразование чаще партеногенетическое, иногда наблюдается половой процесс клетки — копулянты гетерогамные.

Форма спор шаровидная, на поверхности оболочек их имеются бугорки, как это отмечается у дебариомицетов.

Как видно из изложенного, данный организм по своим признакам безусловно относится к эндомицетам и ближе всего к Endomyces magnusii.

Сопоставляя описанный организм с Endomyces magnusii, мы отмечаем много общего. У обоих вегетативное размножение клеток протекает путем деления, спорообразование с копуляцией и без нее, копуляция у Endomyces magnusii изо- и гетерогамная.

В отличие от нашего организма у Endomyces magnusii споры овальные, оболочка спор гладкая и вообще организм этот крупнее, поперечник нитей мицелия его больше, чем у нашего вида.

У других видов эндомицетов вегетативное размножение происходит почкованием, спорообразование партеногенетическое без копуляции, споры могут быть овальными, шаровидными и шляповидными, с гладкой оболочкой или бугристые.

На основании изложенного мы относим наш организм к роду Endomyces как новый вид с названием E. ascosporus.

Выводы

Описан новый вид эндомицетов. Организм найден на листах свежей капусты и на испорченных моченых яблоках.

2. Гриб имеет хорошо развитый мицелий, распадающийся при помощи поперечных перегородок на клетки — оидии. Он образует споры партеногенетические и после копуляции. Споры шаровидны, по одной в сумке. Оболочка спор бугристая.

3. По своим признакам наш гриб близко примыкает к Endomyces magnusii, однако по ряду признаков отличается от него.

4. Описанный организм предлагаем назвать Endomyces ascosporus nov. sp.

Фармацевтический институт
Ленинград

Получено 9. VI. 1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бачинская А. История развития и культура нового дрожжевого гриба Saccharomyces paradoxus. Журн. микробиология, 231, 1914.
2. Langerron et Talice. Nouvelles méthodes d'étude et essai de classification des champignons levariformes. Ann. Parasit., 5, 1, 1932.
3. Link. Magas. Natur., 17, 1809.
4. Vuillemin P. Les champignons parasites et mycoses de l'homme, 1931.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИЦЕЛИЯ ACT. GLOBISPORUS ПРИ ЛИЗИСЕ ЕГО ПОД ВЛИЯНИЕМ АКТИНОФАГА

М. А. Пешков, Я. И. Раутенштейн, М. И. Сорокина, А. Ф. Чередниченко и А. С. Шаркова

Явление лизиса у актиномицетов под влиянием фага впервые описано Дмитриевым [1, 2]. Красильниковым [3], Красильниковым и Кореняко [4] детально описано явление автолиза у актиномицетов и проактиномицетов.

Рогинская и Любимов в 1947 г. доложили в Академии Наук СССР о фаголизисе у культуры Act. griseus (работа была опубликована в 1949 [7]).

Наблюдения над лизисом культуры Act. griseus приведены в ряде работ: Рейлли, Харрис и Ваксман (Reilly, Harris, Waksman [11]), Саудек и Колингсворт (Saudek, Collingsworth [12]), Вудреф, Нанхаймер и Ли (Woodruff, Nunheimer, Lee [13]), Кербер, Гриншпан и Лендлайк (Koerber, Greenspan, Landlykke [10]) и др. В обзорной статье Тихоненко [8] приводится сводка литературы по изучению явления актинофагии. Однако в литературе нет данных о цитологических изменениях мицелия актиномицета под влиянием актинофага.

Цель настоящей работы заключалась в том, чтобы проследить в световом микроскопе за всеми стадиями фаголизиса мицелия актиномицета, имея в виду детально изучить этот процесс и выяснить одновременно некоторые стороны механизма образования фагоустойчивых культур.

Ввиду недостаточности результатов, полученных нами при наблюдении за лизисом живого мицелия, центр тяжести настоящей работы был перенесен на исследование серийных фиксированных и окрашенных препаратов. Методика изготовления серии препаратов сводилась к следующему: фагочувствительная культура Actinomyces globisporus выращивалась на качалке в органической среде в течение 24 часов. Такая культура состоит из крошечных хлопьев мицелия, в этом возрасте еще не фрагментированного. Культуральная жидкость с мицелием помещалась в пробирки и к ней добавлялся актинофаг. Капли зараженной фагом культуры наносились на стерильные предметные стекла. Параллельно в качестве контроля на другие стекла наносилась культура этого же возраста, но без фага. Предметные стекла с культурами помещались во влажные камеры и выдерживались в термостате при температуре 26°. Первые стекла, на которые была нанесена контрольная культура и культура, зараженная актинофагом, сразу высушивались и служили началом серии. Остальные стекла с опытными и контрольными каплями извлекались из влажных камер через следующие сроки: 1 ч. 15 м., 2 ч. 45 м., 3 ч. 45 м., 5 ч. 45 м., 8 ч. 15 м., 8 ч. 45 м., 9 ч. 45 м., 11 ч. 15 м. и 35 часов. По извлечении из термостата препараты фиксировались жидкостью Карнуа в течение 10 мин. и затем окрашивались по Романовскому — Лаверану (Пешков [6]) в течение 18 часов. Вслед за этим окрашенные мазки докрашивались 0,25%-ным водным раствором лихтгрюн и дифференцировались 10%-ным раствором таннина (способ, применявшийся вначале Лавераном для просветления мазков крови, окрашенных по Романовскому, затем рекомендованный Мошковским для дифференцировки мазков крови, окрашенных по Романовскому — Гимза, и за последние годы вве-

денный в практику исследования цитологии бактерий Пешковым). Докраска лихтгрюн производится на половине окрашенной капли. Раствор таннина наносится в виде небольшой капли на какой-либо участок окрашенной части препарата. Действие таннина контролировалось под микроскопом. Раствор таннина обладает свойством удалять все осадки, возникающие после обработки препарата краской Романовского — Гимза, часто сильно загрязняющие фон, а также производить очень осторожную и весьма контрастную дифференцировку протопласта микробной клетки. В первую очередь таннин вымывает краску из клеточной оболочки, которая у актиномицетов окрашивается по Романовскому — Гимза. Кроме того, таннин слегка обесцвечивает базофильно окрашенную цитоплазму, почти не затрагивая хроматиновых элементов и гранул волютина. Характерной особенностью таннинової дифференцировки является то, что лихтгрюн, закрасивший протоплазму, им не извлекается, что способствует полихромазии готового препарата. Достоверность нуклеопротеидной природы неправильной формы метахроматических участков подтверждалась реакцией Фельгена.

Все препараты серии обрабатывались согласно методике, изложенной выше. Освещение микроскопа устанавливалось по Кёлеру. Увеличение на фотопластинках равнялось 1000. Последующим печатанием с растяжением достигалось увеличение в 3000 раз. Препарат иммергировался как со стороны объектива, так и со стороны конденсора. Применялись различные желто-зеленые и зеленые светофильтры. Разрешаемость деталей в ряде случаев приближалась к 0,1 μ. Особое внимание было уделено фиксации тубусодержателя (отсутствие сползания) и укорочению времени экспозиции, что дало возможность получить предельно резкие снимки. Они могли бы быть еще четче при устранении вибрации, почти неизбежной вблизи транспортных магистралей.

Результаты

При сопоставлении микрофотографий серии препаратов контрольной культуры и культуры, пораженной актинофагом, видно, что развитие этих культур в течение всего опыта, продолжавшегося обычно 35 часов, протекало весьма различно. В то время как контрольная культура уже через несколько часов начинала образовывать споры, у культуры, пораженной фагом, спорообразование оказалось полностью подавленным; мицелий фрагментировался и, лизируясь, постепенно превращался в детрит. Через сутки, макроскопически, капля жидкости совершенно просветлялась и в ней наблюдалось несколько центров вторичного роста уже фагоустойчивой измененной культуры.

Анализируя тонкие цитологические изменения контрольной культуры, можно видеть, что в исходном препарате мицелий состоит из тонких нитей, содержимое которых отчетливо дифференцировано на хроматиновые, слегка вытянутые образования и базофильную цитоплазму. Следует учесть, что истинная толщина гиф превышает видимую, так как оболочка гиф утрачивает видимость после дифференцировки таннином. Спустя 1 ч. 15 м. развития в капле на стекле гифы контрольной культуры несколько утолщаются и начинают образовывать боковые отростки. Хроматиновые элементы приобретают большую массивность; они отчетливо выделяются на фоне более бледной протоплазмы. Через 2 ч. 45 м. роста контроля обнаруживается, что боковые отростки гиф значительно удлинились (рис. 1, *б. о.*). При этом как главная гифа, так и ее отростки содержат округлые ядерные элементы различной величины (рис. 1, *х*). Весьма интересным представляется тот факт, что хроматиновые гранулы (рис. 1, *х.*) тончайших боковых отростков во много раз меньше ядерных элементов гифы. Через 3 ч. 45 м. роста гифы контрольной культуры представляются утолщенными и содержат относительно крупные ядер-

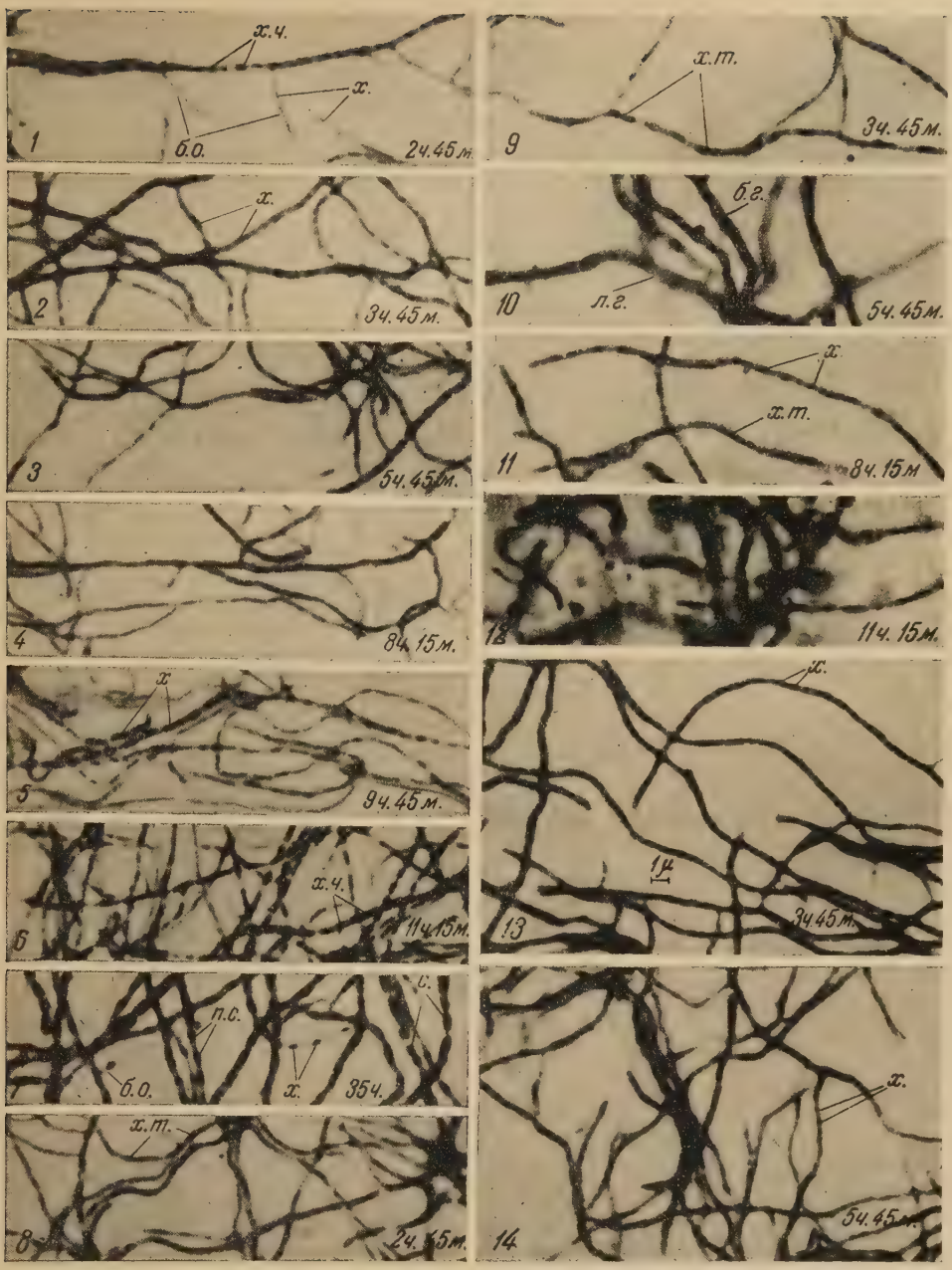


Рис. 1. Контрольная 24-часовая культура актиномицета, перенесенная с качалки на предметное стекло через 2 ч. 45 м. пребывания во влажной камере. Четко видны хроматиновые зерна (*х.*). Боковые отростки удлинились (*б. о.*). В них заметны мелкие хроматиновые частицы (*х. ч.*)

Рис. 2. То же через 3 ч. 45 м.

Рис. 3. То же через 5 ч. 45 м.

Рис. 4. То же через 8 ч. 45 м.

Рис. 5. То же через 9 ч. 45 м.

Рис. 6. То же через 11 ч. 15 м. *

Рис. 7. То же через 35 часов. *

Рис. 8. Культура, зараженная фагом через 2 ч. 45 м. Видны хроматиновые тяжи (*х. т.*)

Рис. 9. То же через 3 ч. 45 м.

Рис. 10. Т же через 5 ч. 45 м. Препарат без дифференцировки таннином; видны еще целые базофильные гифы (*б. г.*) и пустые оболочки лизированных гиф. (*л. г.*)

Рис. 11. То же через 8 ч. 45 м., фрагментация мицелия. Наряду с массивными хроматиновыми тяжами (*х. т.*) видны отдельные хроматиновые зерна (*х.*)

Рис. 12. То же через 11 ч. 15 м. Разгар фрагментации и лизиса

Рис. 13. 18-часовая контрольная культура, отлитая в пробирку и простоявшая в термостате 3 ч. 45 м. Видны гифы, дифференцированные на цитоплазму и ядерные элементы (*х.*)

Рис. 14. То же спустя 5 ч. 45 м.

---

* Постепенное образование спор (*с.*). Наряду с ними видны просторы (*п. с.*). На некоторых гифах выросли боковые отростки (*б. о.*). Их ядерные элементы (*х. ч.*) значительно меньших размеров, чем ядра проспор и спор

ные элементы (рис. 2, *х.*) различной формы. Боковые отростки оказываются выросшими и достигшими толщины центральной гифы. Их хроматиновые гранулы, обладавшие ничтожными размерами порядка 0,1 μ, дорастают до размеров нормальных ядерных элементов. Расстояния между ядерными элементами по длине гифы весьма различны. Спустя 5 ч. 45 м. (рис. 3) и 8 ч. 15 м. (рис. 4) цитологическая картина контрольной культуры в основном остается той же. Через 8 ч. 45 м. и 9 ч. 45 м. неоднородные по толщине гифы состоят из значительно менее базофильной цитоплазмы и сильно удлиненных ядерных элементов, уже имеющих вид проспор (рис. 5). Спустя 11 ч. 15 м. (рис. 6, *х. ч.*) большинство гиф в контроле разбито на проспоры. Последний препарат был сделан через 35 часов с момента начала опыта. В нем гифы утолщены, содержат проспоры (рис. 7, *п. с.*), некоторые гифы распались на споры (рис. 7, *с.*). Видны также боковые почки с различным числом ядерных элементов (рис. 7, *б. о.*) и очень тонкие гифы с хроматиновыми гранулами меньшей величины, чем обычные ядерные элементы, вполне аналогичные боковым отросткам, изображенным на рис. 1. Следовательно, развитие здорового мицелия в данном опыте характеризовалось утолщением и ростом гиф, образованием боковых отростков и распадом мицелия на споры. Ядерное вещество было представлено круглыми или удлиненными ядерными элементами типа нуклеоидов, а также хроматиновыми гранулами значительно меньшей величины, находившимися в тончайших боковых отростках. Волютин в условиях данного опыта почти не образовывался. Базофилия протоплазмы постепенно снижалась.

В гифах культур из опытной серии, в противоположность ходу развития здорового мицелия, сразу вслед за прибавлением фага наблюдается возникновение длинных вакуолей, имеющих вид перерывов в содержимом мицелия, причем содержимое гифы резко базофильно. Через 1 ч. 15 мин. цитологическая картина пораженного мицелия мало чем отличается от таковой соответствующего контрольного препарата; однако, приглядевшись внимательнее, можно убедиться в некоторой более выраженной неоднородности гиф. Хроматиновые элементы менее округлы и подчас образуют короткие тяжи. Через 2 ч. 45 м. образование хроматиновых тяжей уже более выражено (рис. 8, *х. т.*), хотя в некоторых гифах можно видеть более короткие ядерные элементы. Эта картина роста ядерного вещества в виде тяжей особенно ярко выявляется при сопоставлении с контрольным препаратом того же срока (рис. 1). Через 3 ч. 45 м. роста в присутствии фага отчетливо видна значительная разница в толщине гиф и энергичное ветвление мицелия; ядерные элементы в виде коротких тяжей (рис. 9, *х. т.*). Видны также редко расположенные в нейтрофильной протоплазме одиночные круглые нуклеоиды. На рис. 10 изображен больной мицелий, росший в течение 5 ч. 45 м. в присутствии фага. В противоположность остальным препаратам этот объект не подвергался дифференцировке таннином, что было вызвано желанием показать еще не лизированные, резко базофильные гифы (рис. 10, *б. г.*) и большое количество бледноокрашенных пустых гиф мицелия, погибшего в результате литического действия актинофага (рис. 10, *л. г.*). Спустя 8 ч. 15 м. с начала добавления актинофага (рис. 11) оставшиеся нелизированными гифы больного мицелия содержат как нуклеоиды, так и довольно длинные хроматиновые тяжи (рис. 11, *х. х. т.*). Надо отметить, что в параллельном контрольном препарате наблюдается массовое образование проспор и отсутствуют хроматиновые тяжи (рис. 5). Через 9 ч. 45 м. после заражения мицелия актинофагом в некоторых гифах появились гранулы волютина. На рис. 12 зафиксирован момент энергичного лизиса обрывков мицелия после 11 ч. 15 м. Видно много детрита. Через 35 часов действия актинофага на фоне многочисленных еще не растворенных пустых оболочек заметны базофильные гифы вторичного роста фагоустойчивого мицелия.

Для выяснения тонких подробностей внутриклеточных изменений, сопутствующих лизису гиф, аналогичный опыт был повторен в пробирках, откуда через определенные промежутки времени брались пробы, наносились на предметные стекла, высушивались, фиксировались и окрашивались так же, как и препараты первой серии опытов.

Серия микрофотографий (рис. 13—22) изображает развитие 18-часовой культуры актиномицета с качалки, перенесенной в пробирку, хранившуюся в термостате в течение 35 часов. Одновременно в другую пробирку с той же культурой был прибавлен актинофаг.

Мицелий контрольной культуры в этих опытах цитологически не отличался от мицелия, выращиваемого на стеклах, т. е. его гифы содержали преимущественно хроматиновые зерна (рис. 13, *х.*; 14 и 15), и закономерно переходил к спорообразованию (рис. 16, *с.*). Гифы мицелия зараженной культуры после воздействия фагом в течение 3 ч. 45 м., наряду с хроматиновыми тяжами, еще содержали хроматиновые зерна (рис. 17, *х.*). Кроме того, мицелий, пораженный фагом, образовывал короткие боковые веточки. Через 5 ч. 45 м. (рис. 18) наблюдалось утолщение гиф и их быстрый лизис. На этом фотоснимке удалось с большой отчетливостью зафиксировать момент внутриклеточного лизиса, сопровождающийся фрагментацией ядерных тяжей (рис. 18, *ф. х.*), что, повидимому, предшествует вытеканию содержимого гиф после ее взрыва. Через 11 ч. 15 м. после начала опыта видно большое количество пустых оболочек (рис. 19, *л. г.*), а также и нелизированных базофильных гиф. Отчетливо заметен процесс вторичного растворения уже лизированных гиф, повидимому, протекающего неспецифически, в результате действия освободившихся ферментов разрушенного мицелия (рис. 19, *р. г.*).

Особого внимания заслуживало выяснение механизма образования фагоустойчивых вторичных форм. Тщательный анализ препаратов культуры возраста в 35 часов, где макроскопически все было лизировано, позволил обнаружить ограниченные нелизированные участки в полностью запустевших гифах (рис. 20 и 20а, *в. р.*). В ряде случаев наблюдалось развитие таких участков, сопровождавшееся их ростом и ветвлением (рис. 20а, *в. б. о.*). Таким образом, не представляет сомнений тот факт, что при гибели большей части мицелия некоторые его участки под влиянием фага соответственно видоизменяются и приобретают новые свойства — резистентность к фагу и служат центрами роста культур, устойчивых к фагу. Просмотр многочисленных препаратов контрольных и лизированных культур неизменно показывал наличие в лизированных культурах базофильных зернышек, обволакивавших остатки мицелия (рис. 21). В контрольных препаратах такие зернистые массы, как правило, отсутствовали (рис. 22) (мицелий после 10 часов роста в пробирке без фага таннином не дифференцировался). На препарате, обработанном по Фельгену, было установлено, что базофильный осадок в основном состоит из нуклеопротеидов ядерной природы, перешедших при лизисе в раствор (рис. 21) и затем выпавших в осадок при подсыхании капли. Поскольку величина корпускул актинофага приближается к 0,1 μ, не исключена возможность, что некоторая часть гранул, видимых на микрофотографии 21, представляет собой скопления корпускул актинофага, прокрашенных азур-эозином. Заканчивая описание цитологической картины лизиса, гиф мицелия под влиянием актинофага, следует остановиться на фотографии полуразрушенного мицелия (рис. 23). Здесь как и в случае объектов, изображенных на рис. 10, 19, 20, видны запустевшие гифы с лизированным содержимым (рис. 23, *л. г.*), среди которых находятся гифы с базофильным содержимым (рис. 23, *б. г.*). Особого внимания заслуживает отчетливо видимая структура лизированных гиф: во многих случаях (рис. 23, *л. г.*) видна перфорированность клеточной оболочки (рис. 23, *п.*). Повидимому, это те отверстия, через которые происходит вытекание клеточного содержимого после разрыва клеточ-

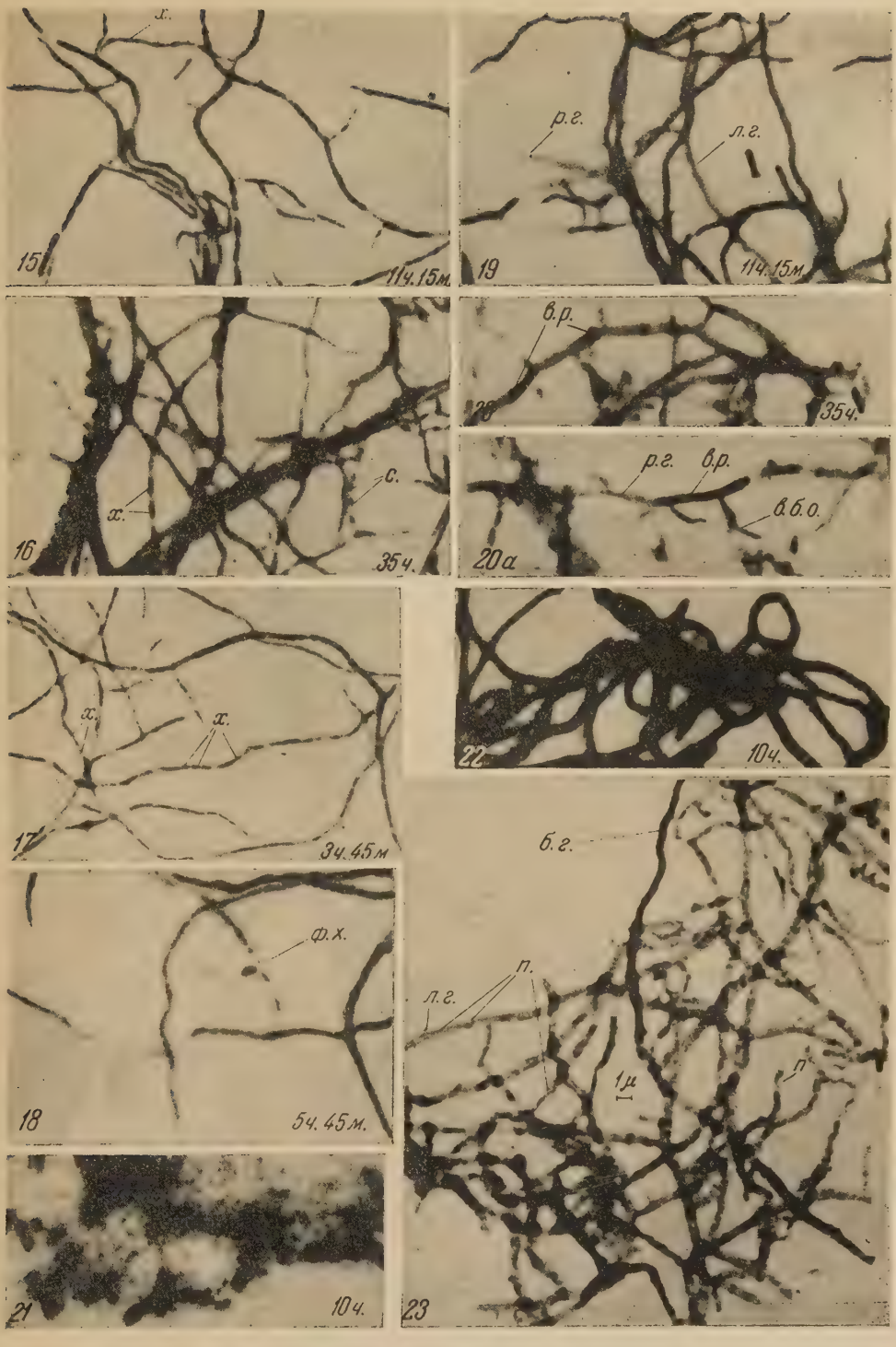


Рис. 15. То же спустя 11 ч. 15 м.

Рис. 16. То же спустя 35 часов. Образование спор (*с.*)

Рис. 17. 18-часовая культура через 3 ч. 45 м. после прибавления актинофага. Еще сохранились хроматиновые зерна

Рис. 18. То же спустя 5 ч. 45 м. В набухших гифах видны ядерные тяжи, уже подвергающиеся зернистому распаду (*ф. х.*). Заснят самый момент внутриклеточного лизиса.

Рис. 19. То же спустя 11 ч. 15 м. Целые и лизированные гифы (*л. г.*) Расплавляющиеся клеточные оболочки (*р. г.*)

Рис. 20. То же спустя 35 часов. В просвете лизированной гифы видны базофильные здоровые участки вторичного роста (*в. р.*)

Рис. 20а. Лизис клеточных оболочек (*р. г.*). Высвобождение ветвящегося (*в. о.*) участка эмбрионального вторичного фагоустойчивого мицелия (*в. р.*)

Рис. 21. Мицелий, зараженный фагом через 10 часов. Полный распад. Окраска азуриозином. Выпадение гранул ядерного нуклеопротеида при высыхании капли. Вероятно, часть гранул является скоплением корпускул актинофага

Рис. 22. Здоровый 18-часовой мицелий после 10-часового роста в пробирке. Окраска азур-эозином. Фрагментация отсутствует, фон чистый

Рис. 23. Лизированный мицелий через 35 часов воздействия фагом. Видны базофильные гифы (*б. г.*) вторичного роста, лизированные гифы (*л. г.*). Перфорация клеточных оболочек (*п.*), через отверстия которой происходит вытекание лизированного содержимого гиф

ной мембраны. В силу тонкой юстировки микроскопа и специальных условий съемки многие из приведенных фотографий (рис. 17, 18, а в особенности 23) по тонкости изображенных на них деталей, вероятно, с успехом могут конкурировать с электронооптическими фотографиями тех же объектов Повидимому, еще многое можно и должно сделать в области изучения тонкого строения микроорганизмов при помощи светового микроскопа в различных его модификациях.

Обсуждение результатов

Явление фагового лизиса актиномицетов в силу многих причин привлекает к себе настойчивое внимание исследователей. В задачу настоящей работы входило изучение тонких цитологических изменений, наблюдавшихся при росте здорового мицелия и мицелия, пораженного фагом. В то время как протопласт здорового 24-часового мицелия, перенесенного с качалки в условия роста в капле жидкости на стекле, быстро образует проспоры, первым цитологическим проявлением действия актинофага является возникновение длинных вакуолей — перемычек внутри гиф. Нуклеопротеидные ядерные элементы пораженного мицелия не расходятся после деления, а возможно, даже сливаются, образуя более и менее крупные хроматиновые тяжи. Этот процесс, повидимому, совершенно аналогичен внутриклеточным изменениям, возникающим у бактерий под влиянием специфического фага (Bac. cereus) (Деляпорт, Delaporte [9]). Вслед за образованием ядерных тяжей наблюдается некоторое набухание гиф и их последующий лизис, причем происходит зернистый распад ядерных образований. Лизис, повидимому, протекает в три фазы. В течение первой происходит внедрение корпускул фага в протопласт мицелия и их внутриклеточное размножение. В течение второй фазы происходит внутриклеточный лизис, заканчивающийся взрывом протопласта и вытеканием его содержимого наружу, что часто совпадает с фрагментацией гиф. Эти две фазы являются специфическими и непосредственно вызываются действием актинофага. Третья фаза, при которой происходит растворение запустелых клеточных оболочек, повидимому, является неспецифической и, вероятно, протекает под влиянием освободившихся внутриклеточных гидролитических ферментов.

Содержимое поврежденных гиф вытекает через многочисленные отверстия величиной около 0,1 μ, пронизывающие клеточную оболочку. Механизм образования этих отверстий, вероятно, также ферментативный. При фаговом лизисе мицелия в раствор переходит большое количество нуклеопротеидов, выпадающих в виде зернистой базофильной массы при подсушивании препарата. Вероятно, пользуясь фаговым лизисом мицелия, можно получать значительные количества ядерного нуклеопротеида для макрохимических исследований его состава и иммунобиологических экспериментов.

Особенно важным, по нашему мнению, является обнаружение в пораженных фагом и лизированных гифах ограниченных базофильных участков, способных к дальнейшему развитию и представляющих собой центры вторичного роста фагоустойчивых вариантов.

Эти данные подтверждают положение Лысенко о том, что при превращении старого в новое видоизменяется не вся клетка в целом, а отдельные ее участки [5].

Необычайное сходство протекания лизиса мицелия актиномицета, вызываемого актинофагом, и лизиса бактериальной клетки, вызываемого бактериофагами, при отсутствии каких-либо принципиальных различий между актинофагом и бактериофагом, является лишним доказательством филогенетического родства актиномицетов и бактерий.

Выводы

1. Здоровый 24-часовой мицелий Actinomyces globisporus, выращенный на качалке, характеризуется хлопьевидным ростом в виде «паучков». Фрагментация гиф отсутствует. Содержимое гиф состоит из базофильной протоплазмы и многочисленных округлых или удлиненных хроматиновых включений. При переносе культуры на предметное стекло и содержании ее во влажной камере гифы через 35 часов распадаются на споры.

2. При содержании в этих же условиях той же культуры, искусственно зараженной актинофагом, вначале наблюдается образование ядерных тяжей. Гифы проявляют тенденцию к ветвлению. Они также несколько вздуваются. Лизис начинается с внутриклеточных изменений ядерного аппарата, приводящих к его зернистому распаду и растворению хроматина. Лизированное клеточное содержимое изливается наружу через мельчайшие поры, пронизывающие клеточную оболочку.

3. При фаговом лизисе актиномицета в культуральную жидкость поступает большое количество нуклеопротеидов, выпадающих в виде зернистого осадка при подсыхании капли на стекле. Этот осадок дает резко положительную реакцию Фельгена.

4. Среди лизированных под влиянием фага гиф цитологически обнаружены жизнеспособные участки мицелия, приобретшие устойчивость к действию фага и являющиеся центрами размножения вторичных фагоустойчивых культур. Это явление вскрывает некоторые стороны механизма образования фагоустойчивых культур, а именно: при воздействии актинофагом на чувствительную к нему культуру отдельные участки некоторых гиф данной культуры соответственно видоизменяются, становятся устойчивыми к фагу, поэтому не лизируются, и служат основой для возникновения фагоустойчивой культуры.

Институт морфологии животных
Академии Наук СССР,
Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 2. 1. 1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дмитриев С. Ф. Явления диссоциации и спонтанного лизиса в культурах актиномицета. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., XIII, вып. 2, 1934.
2. Дмитриев С. Ф. и Фирюкова М. В. Дальнейшее наблюдение над диссоциацией и лизисом у актиномицетов. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., XIV, вып. 5, 1935.
3. Красильников Н. А. Явление автолиза у Actinomycetales. Микробиология, VII, 708, 1938.
4. Красильников Н. А. и Кореняко А. И. Явление автолиза у Actinomycetales. II. Влияние внешних факторов на автолиз актиномицетов и проактиномицетов. Микробиология, VII, 829, 1938.
5. Лысенко Т. Д. Работы О. Б. Лепешинской и превращение видов. Литер. газ. № 109 (2827), 1951.
6. Пешков М. А. Микроскоп, микрофотография и методы исследования живых и окрашенных бактерий. 1-я гл. руководства «Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях». Медгиз, 1949.
7. Рогинская Ц. З. и Любимов В. И. Литические явления в культурах Actinomyces griseus. Микробиология, XVIII, вып. 2, 1949.
8. Тихоненко А. С. Явления бактериофагии у актиномицетов. Природа, № 3, 59, 1950.
9. Delaporte B. Observations on the cytology of Bacteria. Adv. in genetics, VIII, 1950.
10. Koerber W. L. Greenspan G. and Langlykke A. F. Observation on the multiplication of phages affecting streptomyces griseus. J. Bact., 60, No. 1, 29, 1950.
11. Reilly N. C., Harris D. A. and Waksman S. A. An actinophage for Streptomyces griseus. J. Bact., 54, 451, 1947.
12. Saudek E. C. and Collingsworth D. K. A bacteriophage in the streptomycin fermentation. J. Bact., 54, 41, 1947.
13. Woodruff H. B., Nunheimer T. D. and Lee S. B. Bacterial virus for Actinomyces griseus. J. Bact., 54, 535, 1947.

О НАПРАВЛЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

А. Г. Василенко

Поставив перед собой задачу вызвать направленное изменение антагонистических свойств у картофельной палочки (Bac. mesentericus), мы исходили из указаний Лысенко, что знание природных требований и отношения организма к условиям внешней среды дает возможность управлять жизнью и развитием данного организма и что на основе такого знания можно направленно изменять наследственность организма [1]

Из воздуха, сена и навоза нами были выделены 52 штамма картофельной палочки; кроме того, изучались два музейных штамма, полученные из Микробиологического института Академии наук УССР.

Антагонистические свойства картофельной палочки по отношению к 17 различным видам микробов испытывались на агаровой среде и бульоне. Отдельные виды были представлены несколькими штаммами; общее количество штаммов было 53.

Из 53 изученных штаммов картофельной палочки только 7 обладали более постоянным и широким антагонистическм действием по отношению к грамотрицательным микробам (дизентерии, брюшного тифа) и не обладали антагонистическими свойствами по отношению к кишечной палочке, бактериям мышиного тифа (Salm. Breslau), паратифозным А бактериям, к некоторым другим видам сальмонелл и вульгарному протею.

Направленный антагонизм у картофельной палочки воспитывался в отношении тех микробов, к которым антагонистическое действие у картофельной палочки отсутствовало.

В основу нашей работы был положен метод смешанных культур в жидких средах и в стерильной почве. Одновременно воспитание антагонизма проводилось на убитых микробных телах тест-организма. Контролем служили чистые культуры картофельной палочки на тех же средах. В опыт были взяты несколько штаммов Bac. mesentericus, не обладавших антагонистическими свойствами по отношению к Salm. typhi murium (Breslau).

В качестве сред использовались 10%-ный водный сенной отвар, 10%-ный водный отвар хлеба, пивное сусло, разведенное вдвое водопроводной водой, стерильная почва. Кроме того, опыты ставились на голодных средах по методу Шиллера [2]: физиологическом растворе, дестиллированной и водопроводной воде. Всего было поставлено 5 серий опытов по совместному культивированию Bac. mesentericus с Salm. typhi murium.

Мы пользовались принципом насильственного антагонизма по Шиллеру [2, 3, 4, 5], обеспечивая одному виду микроба максимальную активность и вынуждая другой к пассивности.

Опыты на сенном отваре

Картофельная палочка культивировалась совместно: 1) с живой культурой Salm. Breslau, 2) с убитой культурой Salm. Breslau; контролями служили чистые культуры картофельной палочки.

Опыты ставились во флаконах или колбочках с 25—30 мл сенного

отвара; инкубация проводилась при 37° в течение 5 дней, а затем при комнатной температуре. Опыты повторно проверялись.

Через каждые две недели производились новые пересевы на свежие среды (0,1 мл среды опытной культуры пересевались в свежую среду); свежезасеянные среды прогревались до кипения, чтобы убить вегетативные клетки и оставить только споровые формы. После прогревания опытные флаконы выдерживались 24 часа в термостате, а затем в первый флакон подсевалась живая культура Salm. typhi murium, во второй — убитая культура того же микроба, третий оставался контрольным.

Схема опытов на сенном отваре

Таких пересевов было проведено шесть. Через 10 дней из каждого флакона производился посев на чашки с обычным агаром для выяснения способности опытной культуры Bac. mesentericus угнетать рост Salm. typhi murium.

Опыт длился более года. В результате этого возникала необходимость в некоторых флаконах освежать среду, добавляя свежий сенной отвар и прогревая до кипения с последующим подсевом свежей культуры палочки мышиного тифа (схема).

В описанной серии опытов было выделено 11 антагонистических штаммов, дававших зоны угнетения роста Salm. typhi murium на обычном агаре и особенно на сенном агаре (рис. 1 и 2).

Таким образом, совместное культивирование на сенном отваре Bac. mesentericus и Salm. typhi murium (Breslau) способствовало выработке у картофельной палочки антагонистических свойств по отношению к бактерии мышиного тифа Бреслау.

Необходимо отметить, что последовательности в нарастании антагонизма у картофельной палочки в результате пассажей не наблюдалось. Последнее можно объяснить тем, что не проводилась соответствующая селекция. Из выделенных штаммов только 11 резко отличались от исходных штаммов. Все штаммы с антагонистическими свойствами были R-формы. Антагонистические свойства вырабатывались исключительно только в условиях смешанных живых культур. При культивировании Bac. mesentericus на убитых нагреванием до 70° в течение 40 минут (Salm. typhi murium) образование антагонистических свойств не наблюдалось.

Опыты на хлебном отваре

10 г мякиша белого хлеба размачивались в 100 мл водопроводной воды при кипячении, вся масса процеживалась через марлю и разливалась по 5 мл в пробирки.

Мы полагали, что при культивировании картофельной палочки совместно с палочкой мышиного тифа на хлебной среде можно создать особенно благоприятные условия для первого, так как Bac. mesentericus известен как возбудитель «тягучей болезни хлеба».

При высевах из хлебной среды мы наблюдали появление большого количества гладких колоний (S-форм) картофельной палочки, которые не только не угнетали роста Salm. typhi murium, а наоборот, даже стимулировали ее развитие — вокруг гладких колоний Bac. mesentericus отмечался более интенсивный рост культуры мышиного тифа, особенно на средах, бедных питательными веществами.

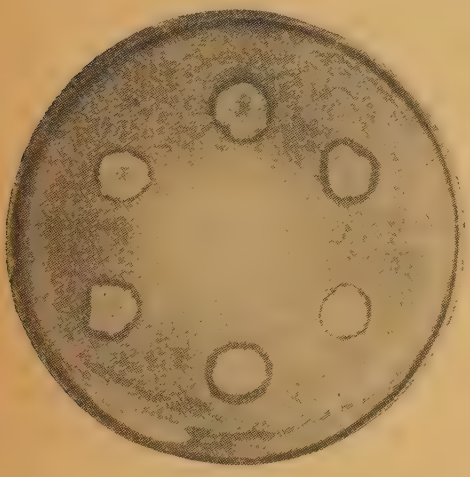


Рис. 1. Зона угнетения роста Bact. Breslau на простом агаре

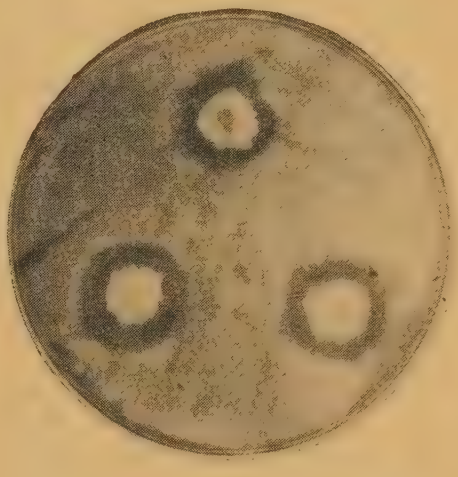


Рис. 2. Зона угнетения роста Bact. Breslau на сенном агаре

Таким образом, при изучении антагонистических свойств Bac. mesentericus мы столкнулись с интересным явлением: один и тот же штамм картофельной палочки является антагонистом в R-форме и стимулятором в S-форме по отношению к культуре мышиного тифа.

Хлебный отвар оказался неблагоприятной средой для направленного воспитания антагонистических свойств у Bac. mesentericus по отношению к Salm. typhi murium.

Опыты на средах с пивным суслом

Свежее пивное сусло прогревалось до 100° в течение 20 минут трижды на протяжении трех дней. Затем сусло разводилось водопроводной водой 1 : 2, фильтровалось через вату, разливалось во флаконы или колбочки по 25 мл и стерилизовалось в автоклаве при 1 атм. в течение 20 минут; pH среды = 6,8—7,0.

Картофельная палочка растет на этой среде, образуя толстую пленку, которая легко заменяется новой, если погрузить первую на дно.

Salm. typhi murium на пивном сусле размножается менее интенсивно, чем на бульоне, оставаясь жизнеспособной в течение 3—4 недель.

Всего было проделано три пересева с промежутками в 30 дней.

Палочка мышиного тифа уже через 10 суток не высевалась из смешанной культуры, поэтому проводились подсевы свежей культуры этого штамма.

В опытах на пивном сусле, продолжавшихся $4^1/_2$ месяца, удалось выделить три активных в антагонистическом отношении штамма (на 45-й день и на 75-й день от начала опыта).

Эти штаммы давали зону угнетения роста Salm. Breslau на сенном и сусловом агаре до 15—16 мм. При культивировании на убитой культуре Salm. Breslau штаммы картофельной палочки давали зоны угнетения от 0 до 2 мм. В контрольных посевах изменений Bac. mesentericus не наступало.

Таким образом, пивное сусло как питательная среда оказалось пригодным для воспитания антагонистических свойств картофельной палочки.

Антибиоз во всех указанных опытах развивался только с живой культурой Salm. Breslau, чем подтверждается положение Шиллера [3, 6] о том, что антагонизм возникает в условиях борьбы за существование как защитное приспособление.

Опыты в стерильной почве

Поводом для этих опытов были работы Дюбо, который в течение двух лет подсевал золотистый стафилококк в определенную пробу почвы, после чего из этой почвы был выделен штамм Bac. brevis с высокой антагонистической активностью.

Для нашего опыта была взята богатая перегноем почва, которая после просушивания и просеивания распределялась в баночки по 50 г в каждую. Стерилизовалась почва сухим жаром 3 дня подряд при температуре 160° по 2 часа, а затем в автоклаве при 1,5 атм. 30 минут.

После контроля на стерильность в три баночки с почвой вносилось по 2 мл взвеси спор Bac. mesentericus (1 млрд. в 1 мл). Затем в одну баночку прибавлялся 1 мл миллиардной микробной эмульсии живой культуры палочки мышиного тифа на физиологическом растворе, во вторую — та же микробная эмульсия, но предварительно прогретая до 70° в течение 40 минут. Контролем служили: 1) почва, засеянная спорами Bac. mesentericus; 2) почва, засеянная культурой Salm. typhi murium.

Опытные баночки с почвой выдерживались в термостате 5 суток, а затем оставлялись при комнатной температуре.

В стерильной почве палочка мышиного тифа сохранялась жизнеспособной до трех месяцев, в смешанной культуре она погибла через 20 дней. Через 20 дней в почву подсевалась свежая живая культура исходного штамма Salm. typhi murium и одновременно во вторую баночку вносилась убитая культура того же микроба.

Всего было поставлено 5 опытов. Через каждые 10 дней производился высев болтушки из опытной почвы на мясо-пептонный агар с газоном бреславльской палочки, чтобы проверить антагонистические свойства картофельной палочки. Опыт продолжался семь месяцев. В результате через 4 месяца, а затем через 5 месяцев были выделены два активных штамма картофельной палочки. Эти штаммы давали зоны угнетения роста тест-культуры от 12 до 15 мм на сенном агаре. Штаммы из контрольной серии и культивировавшиеся на убитой культуре остались неизменными.

Опыты на голодных средах по методу Шиллера

Были взяты в опыт девять пробирок. В три пробирки внесена водопроводная вода, в следующие три — дестиллированная вода и в три последние — физиологический раствор.

Все пробирки засевались эмульсией спор Bac. mesentericus, а затем в одну пробирку из каждой группы подсевалась живая культура Salm. typhi murium (одна петля); в другую — та же культура, но пробирки подогревались до 70° в течение 40 минут; третья пробирка оставалась контрольной.

Так как рост B. mesentericus на этих средах был очень скудный, то для стимуляции роста во все пробирки прибавляли по 1 капле 10%-ного

раствора сахарозы (через сутки), которую разлагает Bac. mesentericus и не разлагает Salm. typhi murium.

Таких опытов было поставлено восемь. Каждый раз картофельная палочка из одного опыта пересевалась в соответствующие пробирки другого опыта, после чего подсевали живую и убитую культуру бактерий мышиного тифа. Пересевы производились через две недели. Образование очень нежной пленки имело место только в первых двух пассажах, в последующих она уже не образовывалась. В этом отношении наши наблюдения расходятся с данными Шиллера [2], у которого образование пленки у B. mesentericus в таких условиях опыта происходило постоянно.

При высевах из голодных сред на чашки появлялись мелкие маслянистые колонии Bac. mesentericus. Культура картофельной палочки как бы «вырождалась». Такие мелкие, маслянистые штаммы не обладали антагонистическими свойствами. Однако из второго пассажа нам удавалось выделить два активных штамма Bac. mesentericus, дававших зону угнетения роста Salm. typhi murium от 8 до 10 мм. Контрольные штаммы и воспитывавшиеся на убитой культуре этими свойствами не обладали.

Таким образом, из всех проведенных нами опытов выделено 17 антагонистических штаммов картофельной палочки; все они были типичными R-формами. Приобретенное этими штаммами антагонистическое свойство оказалось строго специфичным.

Для проверки стабильности антагонистических свойств штаммы пересевались на мясо-пептонном агаре в течение года через каждые 6—7 дней и через различные сроки проверялись антагонистические свойства их на газоне с культурой мышиного тифа.

Эти опыты показали, что раньше всех, через два месяца, утратили свои антагонистические свойства штаммы, выделенные из опытов по Шиллеру [2]. Как видно, антагонистические свойства были у этих двух штаммов слабо закреплены. Затем через четыре месяца утратили свои антагонистические свойства еще три штамма, выделенные из опытов на сенном отваре. Утрата антагонизма не сопровождалась переходом в гладкую S-форму картофельной палочки.

Остальные 12 штаммов в продолжение года (до конца работы) сохранили свои антагонистические свойства.

Выводы

1. При культивировании картофельной палочки совместно с живым тест-организмом возможно направленное воспитание у нее антагонистических свойств к данному организму. При культивировании же картофельной палочки на мертвых, убитых нагреванием микробных телах антагонистические свойства у нее не возникают.

2. Из 17 полученных штаммов с антагонистическими свойствами 12 штаммов стойко сохраняли эти свойства в течение года; два штамма утратили их через два месяца, три штамма — через четыре месяца. Следовательно, приобретенные антагонистические свойства могут быть наследственно закреплены.

3. Антагонистические свойства, приобретенные при совместном культивировании на голодных средах, наследственно не стойки и быстро утрачивались; для длительного закрепления этого свойства необходимо, чтобы их закрепление имело место в средах, обеспечивающих минимальные потребности организма.

4. Наши опыты подтверждают данные Шиллера о насильственном антагонизме.

5. Для направленного воспитания антагонизма у картофельной палочки необходимо отбирать R-формы и избегать применять среды, способствующие образованию S-форм.

6. Явление антагонизма и сателлитизма у одного и того же микроба зависит от состояния культуры: в R-форме картофельная палочка является антагонистом, а в S-форме — стимулятором роста одной и той же культуры.

7. Направленная изменчивость антагонистических свойств у Bac. mesentericus основана на общебиологических принципах изменчивости. Следовательно, направленное воспитание антагонистических свойств может применяться и у других микроорганизмов, в частности продуцентов антибиотиков.

Черновицкий медицинский институт

Получено 20. V. 1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лысенко Т. Д. Агробиология, стр. 344, Сельхозгиз, 1948.
2. Шиллер И. Г. О насильственном антагонизме у бактерий. Врачебное дело, 21—22, 562, 1923.
3. Шиллер И. Г. О насильственном антагонизме (по поводу статьи Веденяпина). Врачебная газета, № 6, 1926.
4. Шиллер И. Г. Насильственный антагонизм и местная терапия стафилококковой инфекции. Тр. Одесской 2-й клинической больницы, 1938.
5. Шиллер И. Г. Насильственный антагонизм в применении к терапии инфекционных болезней. Врачебное дело, № 3, 1940.

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ ПЕКТИНОРАЗЛАГАЮЩИМИ И ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ

Т. М. Дульман и *А. А. Копьев*

Известно, что в природных условиях процессы биохимического разрушения высокомолекулярных соединений протекают при сложных взаимодействиях различных видов микроорганизмов. Это взаимодействие может иметь характер метабиоза, или симбиоза. Явление симбиоза в микробиологических процессах установлено многими исследователями. Так, например, Имшенецкий [2], Имшенецкий и Боярская [3] вызывали сбраживание клетчатки в условиях симбиоза термофильных целлюлозных бактерий с другими микроорганизмами. Микробиологический процесс мочки льна Селибер [9] рассматривает как протекающий при взаимодействии пектиноразрушающих бактерий и сопутствующей микрофлоры, которая способствует ускорению разрушения пектиновых веществ.

Аналогичное явление наблюдала Маркова [6] при одновременном культивировании Saccharomyces ellipsoideus и Clostridium felsineum с целью получения активной закваски пектиновых бактерий.

Микробиологическое разложение пектиновых веществ при мочке льна, как указывает Вольфсон [1] и Минервин [7], Крутикова [5], происходит при сложном взаимодействии разных видов аэробных и анаэробных бактерий.

Таким образом, можно считать очевидным, что микробиологическое разрушение сложных органических соединений происходит при совместном участии различных видов микроорганизмов, в том числе разрушающих и неорганические соединения, которые могут являться источником кислорода.

В связи с этим нам казалось, что такой широко распространенный в природе микробиологический процесс, как денитрификация, может быть эффективно использован при сбраживании пектиновых веществ.

Мы проводили исследования с двумя штаммами денитрифицирующих бактерий Bact. pyocyaneum и Bact. fluorescens, полученными из Института микробиологии Академии Наук СССР. Эти бактерии, как известно, восстанавливают нитраты до свободного азота и являются активными денитрификаторами.

Первые серии опытов были проведены параллельно с двумя указанными культурами, которые готовились в стерильных условиях на МПБ с добавлением 0,2% $NaNO_3$.

Опыты проводились в цилиндрах емкостью в 1 л в нестерильных условиях, отношение между соломой и водой было 1 : 20, $NaNO_3$ добавлялся к среде в количестве 0,2%. Культура денитрификаторов составляла 10% от объема жидкости. Температура опыта 33—35°.

Контролем служили опыты по мочке льна на воде.

Первые две серии показали, что опытная мочка льна проходит значительно интенсивнее и быстрее, чем контрольная.

Отмечались хорошее пенообразование, восстановление нитратов до азота в течение 10—12 часов и обильное развитие микрофлоры. Процесс вымочки льна ускорялся на 31—33% по сравнению с контролем.

Средние данные из нескольких проведенных опытов сведены в табл. 1.

Таблица 1

Мочка льна в нестерильных условиях с применением культуры денитрифицирующих бактерий

Наименование культуры	Количество мл 0,1 *N* NaOH или HCl на 10 мл мочильной жидкости			pH мочильной жидкости		Продолжительность вымочки в часах	% ускорения по сравнению с контролем
	до мочки	после мочки		до мочки	после мочки		
	HCl	HCl	NaOH				
Bact. pyocyaneum	0,2	0,5	—	7,2	7,6	48	36,2
„ fluorescens	0,2	0,6	—	7,2	7,5	49	31,7
Контроль	0,1	—	1,8	7,1	4,3	72	—

Данные, приведенные в табл. 1, подтверждают эффективность применения культуры денитрифицирующих бактерий для мочки льна и свидетельствуют о наличии в мочильной жидкости органических веществ,

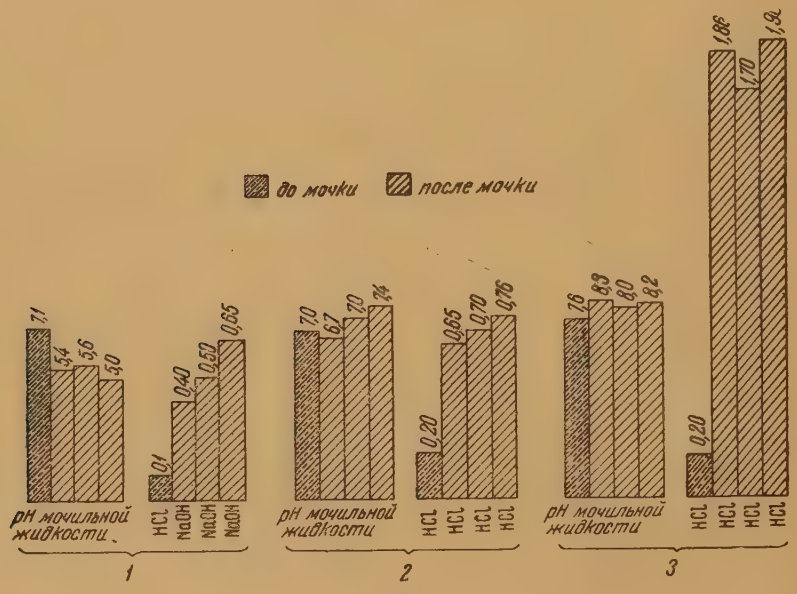


Рис. 1.

1 — мочка стерильной льняной соломы с помощью Bac. felsineus; *2* — мочка стерильной льняной соломы с помощью Bact. pyocyaneum и Bac. felsineus; *3* — мочка стерильной льняной соломы с помощью Bact. pyocyaneum

которые экстрагируются из соломы, и которые легко и в одинаковой степени окисляются Bact. pyocyaneum и Bact. fluorescens, что и дает им возможность размножаться и восстанавливать нитраты до конца.

Далее было необходимо выяснить причины ускорения процесса вымочки льна в присутствии денитрифицирующих бактерий.

С этой целью было проведено четыре серии сравнительных опытов по мочке льна в стерильных условиях с Bact. pyocyaneum как отдельно, так и совместно с Bac. felsineus; с Bac. felsineus на воде с добавлением $NaNO_3$ и без добавления.

Эти опыты проводились в высоких пробирках емкостью на 300 мл, в которых загружались и стерилизовались в сухом виде снопики соломы (по 10 г на пробирку). Водопроводная вода и она же с добавлением 0,2% $NaNO_3$ стерилизовались отдельно и затем стерильно вносились в пробирки (по 200 мл) вместе с суточной культурой Bact. ruocyaneum и двухсуточной культурой Bac. felsineus. Последняя готовилась на 10%-ной картофельной крошке. Контролем в этих опытах являлись посевы соломы в МПБ и в картофельную крошку для того, чтобы проверить стерильность соломы. Результаты проведенных опытов даны на рис. 1 и в табл. 2.

Таблица 2

Мочка стерильной льняной соломы при помощи Bact. ruocyaneum и Bac. felsineus раздельно и совместно в течение трех суток

Наименование культуры	Состав среды	Количество мл 0,1 *N* NaOH или HCl на 10 мл мочильной жидкости			pH мочильной жидкости		Результаты вымочки	Степень отделяемости волокна
		до мочки HCl	после мочки		до мочки	после мочки		
			HCl	NaOH				
Bac. felsineus	Вода	0,1	—	0,6	7,0	5,2	Неполная вымочка	Средняя
„ „	Вода + 0,2% $NaNO_3$	0,2	0,2	—	7,2	7,1	Нет вымочки	Не отделяется
Bac. felsineus и Bact. ruocyaneum	Вода + 0,2% $NaNO_3$	0,3	0,3	—	7,2	7,3	Неполная вымочка	Средняя
Bact. ruocyaneum	Вода + 0,2% $NaNO_3$	0,3	0,7	—	7,1	8,0	Нет вымочки	Не отделяется
Контроль	МПБ + 0,2% $NaNO_3$	0,2	—	0,1	7,1	7,0	Стерильно	—
„	Картофельная крошка + 0,2%	0,2	—	0,2	7,2	7,1	„	—

Из приведенных данных совершенно очевидно, что в опытах с применением Bact. ruocyaneum и $NaNO_3$, где происходит процесс денитрификации, пектин не разлагается и солома не вымокает.

В опытах при использовании названной культуры совместно с Bac. felsineus и Bac. felsineus отдельно на воде без селитры пектин разрушается неполностью.

Из данных табл. 2 видно, что разрушение пектиновых веществ при мочке льна производится пектиноразлагающими бактериями, которые принимают главное участие в освобождении волокна от окружающей ткани.

Однако процесс разрушения пектиновых веществ в стерильных условиях протекает значительно слабее и медленнее, чем в нестерильных. Это обстоятельство подтверждается указаниями Селибера [8] на то, что при самопроизвольной мочке льняной соломы процесс протекает при взаимо-

действии пектиноразлагающих бактерий и сопутствующей микрофлоры, которая создает благоприятные условия для пектинового брожения.

В связи с этим можно было предполагать, что причиной ускорения процесса разрушения пектиновых веществ при мочке льна в нестерильных условиях является присутствие денитрифицирующих бактерий, использующих образующиеся при мочке органические кислоты.

Кроме того, как известно, нитриты, образовавшиеся при восстановлении $NaNO_3$, препятствуют развитию таких видов сопутствующих микроорганизмов, которые сбраживают экстрактивные вещества соломы с образованием различных кислот.

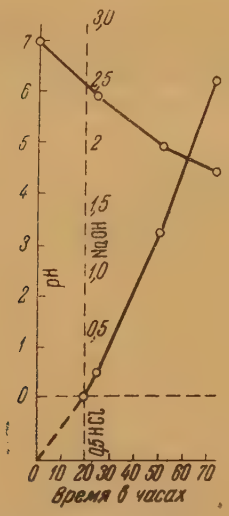


Рис. 2. Кривые нарастания кислотности, изменения pH при самопроизвольной мочке льняной соломы

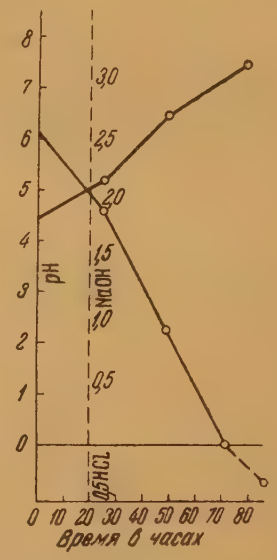


Рис. 3. Кривые использования Bact. ryocyaneum кислот и изменения pH

При мочке льна, как это видно из приведенных данных табл. 1 и 2, в стерильных и нестерильных условиях в присутствии денитрифицирующих бактерий и $NaNO_3$ происходит нарастание щелочности и сдвиг pH в щелочную сторону по сравнению с опытами с Bac. felsineus и контрольными на воде.

Причины последнего явления были выяснены последующими опытами, проведенными в стерильных и нестерильных условиях. В этих опытах в качестве питательной среды была использована мочильная льняная жидкость после 30-часовой обычной тепловой мочки с pH 4,3, содержащая 0,1% кислоты; к ней добавлялось 0,2% $NaNO_3$. Такая среда засевалась культурой Bact. ryocyaneum, и опыты выдерживались 80 часов.

Опыты, проведенные в этих условиях, дали результаты, аналогичные предыдущим (рис. 2 и 3). Полученные данные относительно использования Bact. ryocyaneum кислот, образовавшихся в мочильной жидкости в результате сбраживания пектиновых веществ, с достаточной ясностью объясняют причину отсутствия кислой реакции мочильной жидкости в процессе мочки льна.

Далее была проверена способность Bact. ryocyaneum разлагать кислоты, образовавшиеся в мочильной жидкости. Bact. ryocyaneum выращивалась на синтетических средах, содержащих 0,2% $NaNO_3$. Опыты продолжались трое суток. Полученные результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Опыты с Bact. pyocyaneum на средах с различными органическими кислотами

Состав среды	Количество мл 0,1 *N* NaOH или HCl на 10 мл мочильной жидкости		pH	
	до опыта NaOH	после опыта HCl	до опыта	после опыта
Уксусная кислота + 0,2% $NaHO_3$	0,8	0,7	5,6	7,7
Масляная кислота + 0,2% $NaNO_3$	0,5	0,6	6,1	7,6
Уксусная и масляная кислоты + + 0,2% $NaNO_3$	0,7	0,7	5,8	7,8

Эти результаты подтверждают, что Bact. pyocyaneum хорошо использует органические кислоты (уксусную и масляную).

Эти кислоты, как известно из работ Клупт [4], в основном и образуются в мочильной жидкости в процессе сбраживания пектиновых веществ при мочке льна.

Многократные микроскопические наблюдения над мочильной жидкостью через 24—48 часов от начала опыта постоянно показывали обильное развитие преимущественно неспоровой микрофлоры (короткие палочки, напоминающие денитрифицирующие бактерии), тогда как в контроле развитие микрофлоры было значительно слабее и она состояла главным образом из кокков и длинных палочек.

Прямым методом был проведен подсчет бактерий в мочильной жидкости и определялось количество общего азота по микрокьельдалю. Полученные данные приведены в табл. 4.

Таблица 4

Количество микроорганизмов в 1 мл мочильной жидкости через 24—28 часов от начала опыта и процент общего азота

Наименование культуры	Количество микроорганизмов через 24 час.			Количество микроорганизмов через 48 час.			% общего азота через 24 часа	% общего азота через 48 час.
	палочки	кокки	общее к-во	палочки	кокки	общее к-во		
Bact. pyocyaneum	10^7	10^3	10^{10}	10^6	10^4	10^{10}	0,124	0,130
Контроль	10^2	10^2	10^4	10^3	10^1	10^4	0,043	0,048

Из табл. 4 видно, что в опытной мочильной жидкости количество бактериальных клеток и содержание общего азота в три раза больше, чем в контрольной.

Приведенные нами экспериментальные данные объясняют причину ускорения вымочки льносоломы не менее чем на 30% в случае введения в мочильную жидкость заквасок денитрифицирующих бактерий.

Этот эффект основан на симбиозе между денитрифицирующими и пектиноразлагающими бактериями, ведущими процесс сбраживания

пектиновых веществ. Денитрифицирующие бактерии в первой стадии мочки сбраживают экстрактивные вещества соломы. Вследствие этого они быстро размножаются и в мочильной жидкости накапливаются органические соединения азота за счет бактериальных тел.

Кроме того, в мочильной жидкости подавляется развитие кислотообразующих бактерий благодаря образованию нитритов в процессе восстановления $NaNO_3$ и не накапливаются продукты распада пектиновых веществ (жирные летучие органические кислоты), так как они потребляются денитрифицирующими бактериями. В связи с этим в мочильной жидкости не снижается значение pH в кислую сторону.

Таким образом, нами получено ускорение процесса биологической мочки льна при использовании заквасок денитрифицирующих бактерий на 31—33% по сравнению с контролем (обычной тепловой мочки, применяемой в промышленности). Мы проверили этот новый метод мочки в полузаводских и в заводских условиях.

С этой целью специальными опытами была выяснена возможность замены МПБ более дешевыми питательными средами, пригодными для приготовления заквасок культуры денитрифицирующих бактерий в заводских условиях. Такими средами оказались препарат Казакова и дрожжевой автолизат.

Кроме того, было экспериментально установлено, что культура денитрифицирующих бактерий в количестве 10% к объему мочильной жидкости должна вноситься только в первый опыт, а для последующих может быть многократно использована в качестве бактериальной закваски мочильная жидкость через 20—24 часа от начала опыта.

После предварительной лабораторной подготовки были проведены полузаводские и заводские опыты с целью проверки эффективности нового метода биологической мочки льна в больших масштабах.

На Лихославльском льнозаводе было проведено 23 опытно-производственные мочки с хорошими результатами: процесс вымочки льна ускорялся на 31—36% по сравнению с контролем.

Было вымочено 50 т соломы, и полученная треста после вымочки была переработана в пряжу.

Результаты анализов по переработке тресты и полученной пряжи показали, что выхода волокна и качество его ничем не отличаются от волокна контрольных опытов (обычная тепловая вымочка).

Последнее обстоятельство подтверждает, что применение культуры денитрифицирующих бактерий и нитратов не оказывает отрицательного действия на получение волокна и его качество.

В заключение считаем своим долгом выразить глубокую благодарность А. А. Имшенецкому за руководство при проведении данной работы.

Выводы

1. При мочке льна с применением культуры денитрифицирующих бактерий и добавлением нитратов устанавливаются определенные симбиотические взаимоотношения между Bact. pyocyaneum (или Bact. fluorescens) и пектиноразлагающими бактериями.

2. Этот симбиоз характеризуется тем, что денитрифицирующие бактерии сбраживают экстрактивные вещества соломы и используют в анаэробных условиях за счет кислорода нитрата органические кислоты, образовавшиеся в процессе сбраживания пектиновых веществ. В результате их размножения понижается кислотность в мочильной жидкости и в ней накапливается органический азот. Происходящая по ходу брожения регенерация жидкости создает благоприятные условия для ускорения процесса сбраживания пектиновых веществ пектиноразлагающими бактериями.

3. Ускорение процесса вымочки льна на 31—33% при использовании культуры денитрифицирующих бактерий дает возможность рекомендовать этот новый метод биологической мочки для промышленного применения при первичной обработке льна и других новых лубяных культур.

Центральный научно-исследовательский институт хлопчатобумажной промышленности
Москва

Получено 16. XI. 1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вольфсон И. А. Сравнительное биохимическое изучение Granulobacter pectinovorum и Bac. felsineus. Микробиология, VIII, вып. 6, 1939.
2. Имшенецкий А. А. Микробиология анаэробного разложения целлюлозы. Микробиология, VIII, вып. 3—4, 1939.
3. Имшенецкий А. А. и Боярская Б. Г. Микробиология анаэробного разложения целлюлозы. Брожение целлюлозы как симбиотический процесс. Микробиология, VIII, вып. 6, 1939.
4. Клупт С. Е. К вопросу о биохимизме мочки льна. Тр. Всес. научно-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 7, вып. 1, 1936.
5. Крутикова Л. П. О микроорганизмах тепловой мочки льна. Тр. Всес. научно-иссл ин-та с.-х. микробиологии, 7, вып. 1, 1936.
6. Маркова З. С. Влияние Saccharomyces ellipsoideus на рост и активность Clostridium felsineum. Тр. Всес. научно-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 11, вып. 2, 1951.
7. Минервин В. В. Микробиологические основы мочки льна и пеньки. Сб. по первичной обработке. 1925.
8. Селибер Г. Л. Проблема биологической обработки льна. Тр. Всес. научно-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 7, вып. 1, 1936.
9. Селибер Г. Л. Биологическая мочка лубяных растений и микрофлора мочки. Тр. Всес. научно-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 11, вып. 2, 1951.

СБРАЖИВАНИЕ МАЛЬТОЗЫ ТЕРМОФИЛЬНЫМИ ДРОЖЖАМИ

Л. Г. Логинова

Микроорганизмы в противоположность высшим организмам значительно быстрее подвергаются изменениям под влиянием новых условий жизни. Однако следует помнить, что у микробов также существует консерватизм наследственности, который необходимо преодолеть, «расшатать», чтобы сделать организм более податливым к приспособлению к новым условиям жизни.

В работе по изменению природы микроорганизмов необходимым условием для экспериментатора является глубокое знание биологии того организма, свойства которого он хочет направленно изменить. Только при этих условиях можно сознательно подбирать состав питательной среды и условия культивирования, необходимые для изменения определенных функций у микробов.

Лысенко пишет: «Условия внешней среды являются дифференцирующим материалом развивающегося организма, эти условия ассимилируются живым телом и тем самым тело само себя изменяет, дифференцирует» [4].

Одним из путей направленного изменения свойств микробов является метод длительного их приучения к измененным условиям жизни. Постепенно приучая микробы к новым условиям существования, которые вначале для них являются неблагоприятными, мы тем самым, с одной стороны, постепенно расшатываем наследственную основу, с другой стороны, создаем условия, адэкватно которым происходит развитие определенных функций у микробов. При приучении необходимо учитывать физиологическое состояние и возраст микробов. Более легко организм подвергается изменению в молодом возрасте.

В настоящее время большое внимание к себе привлекают микроорганизмы, способные развиваться при повышенных температурах. Характерной чертой таких микробов является их высокая биохимическая активность.

В результате длительного культивирования дрожжей Saccharomyces cerevisiae XII раса на пивном сусле (7° Балг) при постепенно повышающейся температуре нами была получена раса дрожжей, энергично развивающаяся при 40°.

Экспериментально полученная раса дрожжей отличалась от исходной рядом морфологических и биохимических особенностей. Эти дрожжи размножались при повышенной температуре медленно, но обладали высокой бродильной способностью. При сбраживании сахаросодержащих сред в условиях более низкой температуры (28—30°) экспериментально полученные дрожжи давали тот же выход продуктов брожения, что и обычные, неприученные дрожжи, но размножались они в полтора-два раза быстрее.

Морфологические особенности данных дрожжей детально еще не изучены, однако от исходных форм они заметно отличаются по величине и форме клеток. Дрожжи, приученные к высокой температуре, меньше по величине и более округлой формы.

Методика культивирования дрожжей и некоторые характерные особенности экспериментально полученной расы дрожжей детально описаны нами в более ранней работе [3].

В данном исследовании была выяснена способность экспериментально полученной расы дрожжей сбраживать мальтозу.

Методика исследования

Брожение проводилось в микробродильном приборе Одинцовой, в условиях, при которых исключено размножение дрожжей. В среду вносилось значительное количество клеток (4% по объему среды), что давало возможность судить об интенсивности брожения за относительно короткий промежуток времени. Дрожжи из односуточной культуры, выращенной на жидком пивном сусле, отфильтровывались, промывались водопроводной водой и отпрессовывались. Брожение проводилось в небольшом объеме среды (5 мл). Опыты были проведены на растворе с 4% мальтозы, приготовленном на фосфатном буфере pH 5,5: часть опытов проведена на пивном сусле (7 Балг.).

В ряде опытов к раствору мальтозы добавлялся дрожжевой автолизат. Это делалось с той целью, чтобы получить более полноценную среду. Продолжительность брожения 2—4 часа. Через каждые полчаса-час учитывалось количество выделившейся углекислоты. В некоторых опытах определялось количество образовавшегося спирта и оставшихся в среде редуцирующих веществ. Опыты проводились при температурах 30, 40, 45 и 55°. Цифровой материал в приводимых ниже таблицах представляет средние данные из 3—4 опытов.

С целью сравнительной оценки гидролитической активности фермента мальтазы у исходных — контрольных дрожжей и термофильных — фермент выделялся по методу, описанному Белозерским и Проскуряковым [1].

Активность мальтазы определялась следующим образом: в эрленмейеровские колбы емкостью 100 мл вносилось 5 мл раствора мальтозы (1—2%) и добавлялись различные количества испытуемого фермента. После часовой выдержки в термостате при 40° определялось количество образовавшейся глюкозы.

Экспериментальная часть [1]

Сбраживание сред, содержащих мальтозу

Известно, что изменение обмена веществ у микробов под влиянием новых условий жизни сопровождается изменением у них морфологических и физиологических признаков. Изменение последних связано с перестройкой деятельности ферментативного аппарата. Нас интересовал вопрос, как изменяется действие фермента мальтазы у дрожжей, приученных к высокой температуре. Кратковременные опыты по брожению были проведены на средах, содержащих мальтозу. Испытывались дрожжи обычные, развивающиеся при температуре 28—30°, и форма дрожжей, полученная экспериментально и культивировавшаяся при 40°. Ниже приводятся средние цифровые данные опытов (табл. 1 и 2).

Опыты, проведенные на синтетической среде с мальтозой и на естественном субстрате — пивное сусло при 30°, показывают, что энергия сбраживания на указанных средах совершенно одинакова как у исходной расы дрожжей, так и у расы, полученной экспериментально.

При более высокой температуре брожения (40°) интенсивность сбраживания заметно выше у расы, адаптированной к высокой температуре.

Опыты, проведенные в микробродильном приборе, давали возмож-

---

[1] В экспериментальной работе принимала участие лаборант М. М. Василевская.

Таблица 1

Сбраживание синтетической среды с мальтозой при различных температурах адаптированными дрожжами

(Количество выделившейся CO_2 в миллилитрах)

№ опыта	Испытуемые культуры	Температура опыта в °С	Длительность брожения в часах					Итого	
			0,5	0,5	0,5	0,5	1,0	за 2 часа	за 3 часа
13	Контроль 1*	30	3,4	4,56	5,7	5,76	11,56	19,42	30,98
	Дрожжи, адаптированные к 40°	30	4,2	4,6	4,96	5,43	12,06	19,19	31,25
15	Контроль	40	5,6	6,57	5,73	6,43	9,76	24,33	34,09
	Дрожжи, адаптированные к 40°	40	5,50	7,63	6,70	6,40	9,70	26,23	35,93
17	Контроль	40	3,55	3,80	3,95	4,65	8,10	15,95	24,05
	Дрожжи, адаптированные к 40°	40	6,75	6,85	5,30	7,50	8,85	26,4	32,35
18	Контроль	40	3,0	3,2	3,75	6,05	—	16,0	—
	Дрожжи, адаптированные к 40°	40	7,0	7,03	7,90	9,13	—	31,06	—

* Дрожжи развиваются при 28—30°

ность судить об интенсивности брожения по количеству выделившейся углекислоты. Однако одновременно с этим интересно было также учесть и количество спирта, образовавшегося в процессе кратковременного брожения.

Как и следовало ожидать, опыты показали, что спирт образуется в количествах, эквивалентных выделившейся углекислоте (табл. 3).

При дальнейшем повышении температуры (45—55°) снижается энергия брожения и у исходной и у экспериментальной культур дрожжей. Однако количество выделившейся углекислоты заметно больше у формы, полученной экспериментально (табл. 2).

Приведенные данные показывают, что более устойчивым к высокой температуре ферментным комплексом обладает раса, полученная экспериментально.

Рубин и Соколова (5), изучая взаимоотношения между превращениями углеводов картофеля при высоких температурах, установили, что «в явлениях приспособления к температурному режиму ферментативный аппарат растения играет весьма существенную роль, причем приспособление это идет через смещение температурных оптимумов действия ферментов».

Очевидно, и в нашем случае имеет место аналогичное явление в процессе приспособления дрожжей к повышенной температуре.

Добавление к испытуемой синтетической среде, содержащей мальто-

Таблица 2

Сбраживание пивного сусла (7° Балг.) при различных температурах дрожжами, адаптированными к повышенной температуре

(Количество выделившейся CO_2 в миллилитрах)

№ опыта	Испытуемые культуры	Температура опыта в °	Длительность брожения в часах				
			1,0	1,0	1,0	Итого	
						за 2 часа	за 3 часа
10	Контроль 1*	30	9,4	10,0	9,45	19,4	28,85
	Дрожжи, адаптированные к 40° . .	30	11,4	11,45	5,55	22,85	28,48
11	Контроль 1	30	9,9	10,0	10,4	19,9	30,3
	Дрожжи, адаптированные к 40° . .	30	9,76	12,53	7,73	22,29	29,93
12	Контроль 1	30	11,2	11,2	7,5	22,4	29,9
	Дрожжи, адаптированные к 40° . .	30	11,4	14,65	4,05	25,45	29,50
9	Контроль 1	40	10,0	6,53	9,80	15,53	26,33
	Дрожжи, адаптированные к 40° . .	40	14,4	10,23	12,70	24,63	37,30
7	Контроль 1	45	9,1	4,4	3,3	13,5	16,80
	Дрожжи, адаптированные к 40° . .	45	15,26	6,8	2,2	22,06	24,26
8	Контроль 1	55	3,30	0,6	0,20	3,90	4,1
	Дрожжи, адаптированные к 40° . .	55	4,75	2,75	0,25	7,50	7,75

* Дрожжи развиваются при 28—30°.

зу, дрожжевого автолизата заметно повышает интенсивность брожения; при этом сохраняются уже отмеченные закономерности в отношении сбраживания мальтозы (табл. 4).

Приведенные цифровые данные с убедительностью показывают, что при направленном изменении свойств микроорганизмов последние изменяются адэкватно условиям среды; так, при длительном выращивании дрожжей при повышенной температуре на среде, содержащей мальтозу, последние приобретают способность более интенсивно выделять в среду гидролитический фермент мальтазу.

Из литературных данных известно, что температурный оптимум этого фермента около 40°, а так как экспериментально полученная форма дрожжей способна энергично развиваться при 40°, то вряд ли в отношении данного фермента можно предполагать, что произошло смещение его температурного оптимума.

Таблица 3

Сбраживание синтетической среды с мальтозой дрожжами, адаптированными к 40°

№ опыта	Испытуемые культуры	Температура опыта в °	Длительность брожения в часах					
			1,5		3,0		4,5	
			к-во выделенной CO_2 в мл	спирт в 100 мл среды в г	к-во выделенной CO_2 в мл	спирт в 100 мл среды в г	к-во выделенной CO_2 в мл	спирт в 100 мл среды в г
1	Контроль 1*	40	11,6	1,56	27,8	2,44	37,2	3,08
	Дрожжи, адаптированные к 40°	40	17,2	2,48	33,0	3,08	40,8	3,92
3	Контроль 1	40	10,5	1,26	20,4	2,14	28,6	2,78
	Дрожжи, адаптированные к 40°	40	11,7	1,46	25,0	2,78	34,3	3,28

* Дрожжи развиваются при температуре 28—30°.

Интенсивность гидролитического действия мальтазы, выделенной из клеток исходных дрожжей и дрожжей, приученных к высокой температуре

Опыты, проведенные по кратковременному сбраживанию мальтозы двумя вышеуказанными расами дрожжей, наглядно показали, что сбраживание мальтозы при повышенной температуре происходит более интенсивно формой дрожжей, полученной экспериментально. В дальнейшем интересно было проследить действие этого фермента внеклеточно. Нами был выделен фермент из клеток и испытана его гидролитическая активность (табл. 5).

Приведенные данные показывают, что интенсивность гидролитического действия мальтазы выше у дрожжей, приученных к повышенной температуре. При этом с увеличением концентрации фермента интенсивность его действия увеличивается.

Необходимо отметить, что при проведении длительного двухсуточного сбраживания пивного сусла при повышенной температуре (40°) наиболее интенсивно брожение осуществляла культура, адаптированная к этой температуре. Наши данные полностью согласуются с результатами, полученными при проведении аналогичных опытов, описанных в более ранней работе [2, 3]. Адаптированная к повышенной температуре раса дрожжей стойко сохраняет свои свойства на протяжении шести лет культивирования.

Возможна, очевидно, дальнейшая адаптация экспериментально полученной формы дрожжей к еще более высокой температуре.

В настоящее время в лаборатории имеется раса, энергично развивающаяся при 44°.

Обсуждение результатов

Экспериментальные данные, полученные по приучению дрожжей к повышенной температуре, показывают, какие глубокие морфологические и физиологические изменения претерпевают микроорганизмы, попадающие в измененные условия существования.

Таблица 4

Сбраживание синтетической среды с мальтозой, содержащей автолизат

(Количество выделившейся CO_2 в миллилитрах)

№ опыта	Испытуемые культуры	Состав среды	Температура опыта в °	Длительность брожения в часах					Итого	
				0,5	0,5	0,5	0,5	1,0	за 2 часа	за 3 часа
17	Контроль 1*	Мальтоза 4% без автолизата	40	3,55	3,8	3,95	4,65	8,1	15,95	24,05
	То же	Мальтоза 4% с автолизатом	40	4,26	4,46	4,97	6,23	12,43	19,92	32,35
	Дрожжи, адаптированные к 40°	Мальтоза 4% без автолизата	40	6,75	6,85	5,3	7,50	8,85	26,4	35,25
	То же	Мальтоза 4% с автолизатом	40	7,17	7,6	8,6	7,23	5,66	30,60	36,26
18	Контроль 1	Мальтоза 4% без автолизата	40	3,0	3,2	3,75	6,05	11,85	16,0	27,85
	То же	Мальтоза 4% с автолизатом	40	4,0	3,8	6,05	8,1	14,35	21,95	36,30
	Дрожжи, адаптированные к 40°	Мальтоза 4% без автолизата	40	7,0	7,03	7,9	9,13	10,96	31,06	42,02
	То же	Мальтоза 4% с автолизатом	40	8,2	9,4	10,3	12,2	7,05	40,10	47,15

* Дрожжи развиваются при 28—30°.

Вначале под влиянием неблагоприятных условий жизни у дрожжей, очевидно, происходит «расшатывание» их наследственной основы. В дальнейшем, по мере их культивирования, при все более повышающихся дозах действующего фактора, у дрожжей постепенно изменяется тип ассимиляции, тип обмена веществ и они приобретают способность полноценно существовать в новых условиях.

В вышеприведенных исследованиях можно отчетливо видеть, что экспериментально полученная раса дрожжей в результате приучения к повышенной температуре приобрела целый ряд признаков, отличающих ее от исходной формы. При этом изменение функций организма происходило адэкватно условиям внешней среды.

Так, дрожжи в результате длительного культивирования на пивном сусле при повышенной температуре заметно усилили образование фермента мальтазы.

Таблица 5

Интенсивность гидролитического действия мальтазы у дрожжей исходных и адаптированных к повышенной температуре

Вариант опыта	№ опыта	К-во фермента в мл, добавленного к 100 мг мальтозы, содержащейся в 5 мл р-ра	К-во редуцирующих веществ после часовой выдержки при 40° в мг	№ опыта	К-во фермента в мл, добавленного к 50 мг мальтозы, содержащейся в 5 мл р-ра	К-во редуцирующих веществ после часовой выдержки при 40° в мг	№ опыта	К-во фермента в мл, добавленного к 51 мг мальтозы, содержащейся в 5 мл р-ра	К-во редуцирующих веществ после часовой выдержки при 40° в мг	№ опыта	К-во фермента в мл, добавленного к 100 мл мальтозы, содержащейся в 5 мл р-ра	К-во редуцирующих веществ после часовой выдержки при 40° в мг
Контроль 1 . . .	1	—	50	2	—	28,15	3	—	27,0	4	—	54,09
Контроль 2 . . .	1	4А	71,24	2	1А	31,87	3	2А	30,42	4	1А	60,09
Опыт	1	4В	92,24	2	1В	34,21	3	2В	33,06	4	1В	63,12

Примечание. А — фермент (мальтаза), приготовленный из исходной расы дрожжей. В — фермент (мальтаза), приготовленный из дрожжей, адаптированных к 40°.

В условиях длительного двухсуточного брожения выход продуктов брожения одинаковый как у исходной расы дрожжей при температуре опыта 30°, так и у расы, полученной экспериментально.

Заметные преимущества в интенсивности сбраживания на данной среде при температуре опыта 40° имеет раса дрожжей, ранее адаптированная к этой температуре. Путем многократных пассажей экспериментально полученной расы дрожжей на пивном сусле при 40° удалось вновь полученные свойства дрожжей закрепить наследственно. Возможна дальнейшая адаптация дрожжей к более повышенной температуре.

Выводы

1. В результате длительного культивирования дрожжей Saccharomyces cerevisiae XII раса при повышенной температуре получена новая форма дрожжей, отличающаяся от исходной рядом морфологических и физиологических особенностей.

2. Одним из отличительных свойств этой расы является повышение активности гидролитического фермента мальтазы, что отчетливо обнаруживается в условиях кратковременного брожения.

3. В условиях длительного (двухсуточного) брожения на пивном сусле выход продуктов брожения у адаптированной расы при 40° такой же, как у исходной расы при 30°.

4. При 40° энергия сбраживания у исходной расы дрожжей ниже, чем у расы, полученной экспериментально; в этих температурных условиях клетки исходной расы находятся в угнетенном состоянии.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 25. XII. 1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белозерский А. Н. и Проскуряков Н. И. Практическое руководство по биохимии растений. Гос. изд-во «Советская наука», М., 1951.
2. Имшенецкий А. А. и Логинова Л. Г. Адаптация дрожжей к повышенной температуре. Микробиология, XIII, 136, 1944.
3. Логинова Л. Г. Адаптация дрожжей. Брожение, вызываемое дрожжами, адаптированными к высокой температуре. Микробиология, XVII, 15, 1948.
4. Лысенко Т. Д. Агробиология. 3-е доп. изд. Сельхозгиз, стр. 350, 1948.
5. Рубин Б. А. и Соколова В. Е. О роли ферментативного аппарата в приспособительных реакциях растения к внешней среде. ДАН СССР, XIV, 377, 1949.

НОВЫЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ВЫСОКОЙ АКТИВНОСТИ ИЗ ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА ASPERGILLUS TERRICOLA

И. Н. Виноградова, И. П. Платонова и *В. А. Петренко*

Во время Великой Отечественной войны коллективом Центрального института эпидемиологии и микробиологии, ныне Института эпидемиологии и микробиологии АМН СССР им. Гамалея, по предложению Пешкова, впервые были использованы для переваривания белков с целью изготовления бактериологических питательных сред ферменты плесневых грибов из рода Aspergillus (Пешков [4]; Виноградова [2]). Для получения грибной протеазы непосредственно в условиях бактериологического института мы выращивали на отрубях (Стахеева-Каверзнева и Олейникова [5]; Фостер (Foster [6]) культуры аспергиллов, которые и употребляли в качестве энзиматического препарата. Питательные среды, полученные путем расщепления различных белков протеолитическими ферментами аспергиллов, мы назвали грибными.

Грибные среды отвечали всем требованиям, предъявлямым к хорошим питательным средам, применяемым при изготовлении вакцин, дизентерийного бактериофага и других бактерийных препаратов (Виноградова [2]). Применение грибных сред при производстве бактерийных препаратов освобождает от необходимости затраты большого количества ферментов животного происхождения и позволяет значительно снизить себестоимость продукции.

В настоящее время грибные среды получили широкое практическое применение в ряде бактериологических институтов.

В связи с внедрением новой технологии изготовления бактерийных препаратов, разработанной Н. Е. Лебедевым, перед нами возникла необходимость улучшения качества препарата грибной протеазы с точки зрения повышения ее активности.

В настоящей работе мы поставили задачу добиться повышения активности грибной протеазы путем изучения условий накопления комплекса протеолитических энзимов в культуре Asp. terricola в зависимости от условий ее выращивания.

Большинство исследований по этому вопросу, за исключением работ Бабакиной и Замыслова [1], Стахеевой-Каверзневой и Олейниковой [5], посвящено главным образом изучению условий действия энзимов на различные белки. Технологии выращивания гриба на отрубях уделялось меньше внимания. Такие работы проводились с Asp. oryzae, Asp. niger и некоторыми другими грибами.

Методика получения грибной протеазы в условиях производства

Для выращивания гриба мы пользовались общепринятой методикой для культивирования плесеней (Стахеева-Каверзнева и Олейникова [5]).

Пшеничные отруби увлажняют водой из расчета 300—350 мл на 400 г отрубей, стерилизуют в автоклаве при 120° в течение 30 минут, переносят в противень из нержавеющей стали или оцинкованного железа размером 700 см × 25 см × 10 см. На каждый противень загружают

400 г сухих отрубей и засевают взвесью спор, получаемой после смыва культуры гриба на сусловом агаре (с двух пробирок) в 100 мл физиологического раствора.

Засеянные отруби тщательно разравнивают и слегка отодвигают от стенок противня. Толщина слоя отрубей составляет 1—1½ см. Помещают отруби в хорошо аэрируемый термостат с температурой 26—28°.

В процессе выращивания гриба соблюдают следующие условия. Покрывают каждый противень марлей и металлическим листом. Через сутки лист сдвигают так, чтобы с двух сторон остались щели для аэрации. По мере развития гриба на внутренней стороне листов скапливаются капли воды. Во избежание попадания их обратно в противни листы время от времени переворачивают обратной стороной. На пятые сутки листы снимают. На седьмые сутки процесс выращивания гриба считают оконченным. К этому времени мицелий нарастает по всей толще отрубей, обильно покрывается спорами и высыхает. Полученная воздушно-сухая масса содержит комплекс протеолитических энзимов, и ее применяют в качестве препарата грибной протеазы. Выход ферментного препарата составляет 50% от веса взятых сухих отрубей.

Определение активности протеазы производят по способу Фульд-Гросса на казеине (Виноградова [2]; Пешков [4]).

Экспериментальная часть

При массовом изготовлении «ферментного препарата» Aspergillus terricola наблюдались колебания в активности различных серий от 650 до 2500 ед. Прежде чем искать способ повышения активности, мы должны были найти и устранить причину этих колебаний. Ни один фактор не имеет столь большого значения для развития грибов, как влажность, поэтому мы поставили ряд опытов с целью получить ферментный препарат при различных условиях влажности питательного субстрата. Влажность смешанных с водой отрубей определялась после стерилизации и внесения посевного материала и устанавливалась от 33 до 62%.

Таблица 1

Влияние влажности питательного субстрата на активность протеолитических ферментов

№ опыта	Влажность отрубей после посева в %	Активность по Фульд-Гроссу в ед.
1	33	650
	38	1250
	45	1250
2	38	1250
	45	1250
	56	2500
3	33	650
	39	2500
	54	2500
	59	1250
	62	1250

Результаты опытов, сведенные в табл. 1, показывают, что между влажностью питательного субстрата и активностью препарата наблюдается закономерная зависимость. Из данных этой таблицы видно, что для получения препарата с активностью не ниже 2500 ед. необходимо иметь влажность засеянных отрубей 45—55%. При этих условиях мицелий пронизывает полностью все слои отрубей и отруби обильно покрываются спорами. При недостаточной влажности гриб быстро высыхает, мицелия и спор образуется мало, остается большое количество неиспользованных неизмененных отрубей, активность протеаз редко достигает 1250 ед. Излишняя влажность, так же как и недостаточная, приводит к ухудшению качества препарата, так как мицелий развивается в виде пленки на поверхностном слое отрубей, совершенно не проникая в глубь всей массы.

Повышение активности путем изменения температурного режима выращивания

В опытах, которые описаны ниже, культура Aspergillus terricola выращивалась в условиях оптимальной и пониженной влажности. Однако в этих опытах мы интересовались не только состоянием культуры после полного созревания спор, но и промежуточными стадиями, которые проходит гриб в цикле своего развития. Мы отмечали продолжительность следующих периодов роста культуры: 1) с момента посева до окончания процесса прорастания спор, о чем можно было судить по появлению равномерно расположенных, отдельных, едва заметных белых колоний мицелия; 2) с момента посева для образования мощного мицелия, пронизывающего отруби до дна противня, но еще полностью лишенного спор; 3) с момента посева до появления первых отдельных участков спор на сплошной массе мицелия (местами легкое пожелтение верхнего слоя культуры около стенок противня); 4) с момента посева до окончания процесса спорообразования, т. е. до появления обильных спор во всей толще культуры, принимающей по этой причине яркооранжевый оттенок. Параллельно брались пробы культуры в различные моменты выращивания и определялась активность протеазы, накопившейся к этому времени в культуре.

Результаты опытов, сведенные в табл. 2, показывают, что в условиях оптимальной влажности быстрее заканчивается как весь цикл развития Asp. terricola в целом, так и отдельные стадии его развития.

Что касается активности протеаз, то, как это видно из табл. 3, активность протеолитических энзимов возрастает по мере увеличения массы мицелия и достигает максимума, когда культура находится в состоянии обильного образования спор.

Таблица 2

Влияние влажности питательного субстрата на скорость созревания гриба

Влажность субстрата после посева в %	Время в часах от засева до			
	прорастания спор—появления заметного мицелия	образования обильного мицелия	появления спор	завершения процесса образования спор (сплошные споры)
38	30	34	36	41
45	28	34	34	36
56	24	26	30	32

Таблица 3

Накопление протеаз в процессе выращивания гриба

Продолжительность выращивания в часах	Состояние культуры	Активность по Фульд-Гроссу в ед.
23	Мицелия мало	650
28	Мицелия много. Едва появились споры	1250
76	Сплошные споры	2500
Воздушно-сухой препарат	„ „	2500

Необходимо было далее выяснить влияние скорости прохождения грибом всех стадий развития на активность ферментного препарата.

Быстрое прорастание спор и относительно быстрое разрастание мицелия для получения активного препарата совершенно необходимы. Плохо развившийся мицелий, не обладающий достаточной энергией размножения, не может быть мощным образователем ферментов. Однако начало процесса спорообразования, как известно, свидетельствует если не об остановке роста грибницы, то во всяком случае указывает на его замедление. Отсюда у нас возникло предположение о том, что удлинение вегетативной фазы роста гриба, некоторая задержка начала процесса спорообразования, а затем медленное и постепенное увеличение количества спор должны способствовать накоплению протеолитических ферментов, а следовательно, в конечном счете повысить активность готового энзиматического препарата.

Из многих факторов, оказывающих влияние на процесс образования спор у грибов, мы остановились на температурном (Курсанов [3]). Хорошо развившийся мощный 18—22-часовой мицелий, выращенный при температуре 26—28°, переносился для дальнейшего созревания в различные температурные условия от 8 до 37°, контроль оставлялся при температуре 26—28°.

Таблица 4

Влияние температуры на скорость созревания гриба

Температура выращивания в °	Время в часах от посева до			
	прорастания спор—появления мицелия	образования обильного мицелия	появления единичных спор	завершения процесса спорообразования (сплошные споры)
8—9	Роста нет			
16—19	62	68	74	96
20—23	32	36	38	50
26—28	22	24	29	34
37—39	14	16	Нет	Нет

Параллельно ставился второй контрольный опыт, в котором культура с момента посева находилась при температуре 8, 18, 23 и 37°. Эти опыты подтвердили, что температура 26—28° для прорастания спор и вегетативного роста грибницы выбрана нами вполне правильно (табл. 4).

При 37° мицелий развивается из спор в течение 16 часов. Однако гриб быстро засыхает вследствие обильного испарения воды под влиянием высокой температуры и вновь спор не образует. При температурах 23 и 18° прорастание спор и развитие мицелия происходят много медленнее, чем при 26°. При температуре 8° споры не прорастают.

Опыты переноса мицелия в различные температурные условия показали, что при 18° процесс спорообразования начинается немного позднее и удлиняется до 16 часов (в то время как в контроле при 26° на него требуется всего 6 часов), т. е. протекает именно так, как мы предполагали его осуществить. Ни при 37, ни при 8° споры не появлялись (табл. 5).

Приведенные в табл. 6 результаты определения активности протеолитических ферментов полностью подтвердили наше предположение. Во всех случаях, когда хорошо развившийся мицелий, выращенный при температуре 26—28°, переносился для созревания спор в термостат с температурой 18°, активность протеаз неизменно достигала 10 000 ед., в 4 раза превышая активность протеолитических энзимов гриба, выращенного обычным способом (без переноса) при температуре 26—28°.

Таблица 5

Влияние температуры на процесс образования спор

Температура в °, в которую перенесен 24-часовой мицелий, выращенный при 26—28°	Время в часах от посева до	
	появления единичных спор	завершения процесса спорообразования (сплошные споры)
8—9	Нет	Нет
18	32	48
26—28	29	34
37—39	Нет	Нет

Таблица 6

Зависимость активности протеаз в «ферментном препарате» от различных условий выращивания

№ опыта	Активность сухого гриба в ед.	
	мицелий и споры получены при 26°	мицелий получен при 26°, споры — при 18°
1	1 250	5 000
2	2 500	10 000
1-я производств. серия	2 500	10 000
2-я „ „	2 500	10 000
3-я „ „	1 250	5 000

До сих пор под температурой выращивания мы исключительно подразумевали температуру термостата, регулируемую по нашему усмотрению. В то же время параллельно велись измерения температуры не

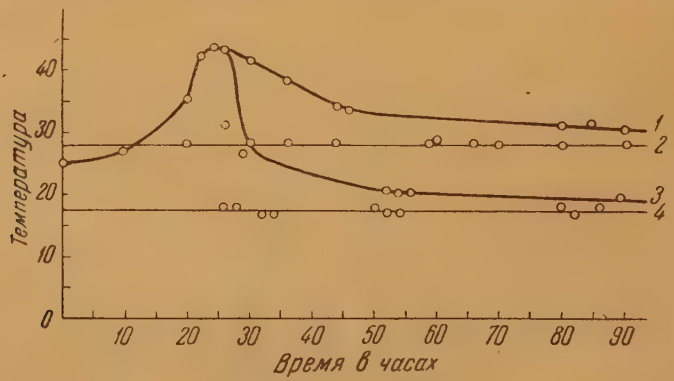


Рис. 1. Динамика изменения температуры внутри культуры при различной температуре термостата

1 — температура в культуре; *2* — температура в термостате; *3* — температура в культуре (с переносом мицелия); *4* — температура в термостате (с переносом мицелия)

посредственно в культуре, для чего термометр помещался внутрь слоя отрубей. Эти измерения позволили построить температурные кривые, показывающие, что процесс прорастания спор и особенно бурный рост мицелия сопровождаются самопроизвольным резким повышением температуры до 42—43° (рисунок).

Достигнув максимума, температура в культуре, которая не переносится в другие температурные условия, по мере созревания спор начинает понижаться. В культуре, которая переносится в более низкие температурные условия, наблюдается сначала резкое падение температуры в первые часы после переноса — с 43 до 28°, а затем, как в культуре без переноса, постепенное понижение температуры, причем в первом случае она оказывается на 11—13° ниже.

Возникло предположение, что такая высокая температура культуры в опыте без переноса сказывается отрицательно на накоплении ферментов, так как она вызывает преждевременное высыхание мицелия. Результаты определения влажности культуры в процессе выращивания (табл. 7) подтвердили это предположение и показали, что переносом мицелия в более низкие температурные условия мы сохраняем культуру длительное время при повышенной влажности.

Таблица 7

Изменение влажности культуры в процессе выращивания

(Влажность после посева — 52,1%, в мицелии перед переносом — 51,1%)

Продолжительность выращивания с момента посева в часах		72	96	120	144	168
Влажность культуры в %	после переноса (при 18°)	50,4	49,8	48,8	32,4	26,6
	без переноса (при 28°)	49,4	44,4	41,0	26,2	18,8

Таким образом, переносом культуры мы замедлили процесс образования спор, удлинили вегетативную фазу роста гриба, создали благоприятные условия для накопления протеаз и добились повышения активности до 10 000 ед.

Повышение активности путем обогащения питательной среды мицелиальными белками Aspergillus terricola

Параллельно с изучением влияния температурного режима на процесс выращивания Aspergillus terricola и протеолитическую активность сухого гриба нами велись опыты с целью повышения активности протеаз путем изменения состава питательной среды. К питательным субстратам, предназначенным для выращивания мицелиальных грибов — продуцентов протеаз, предъявляются определенные требования и, прежде всего, о наличии в средах достаточного количества белковых соединений. Несмотря на то, что содержание белков в отрубях достигает 14%, некоторые авторы добавляли к ним в качестве белковых продуктов обезжиренный соевый шрот (Стахеева-Каверзнева и Олейникова [5]) или мездру (Бабакина и Замыслов [1]). Наиболее целесообразным нам казался такой метод обогащения отрубей белковыми соединениями, который не требовал бы дополнительного внесения питательных веществ. Эту задачу нам удалось разрешить путем обогащения отрубей мицелиальными белками того же самого гриба Asp. terricola, практически осуществляемого весьма простым способом. Отруби, проросшие после первого посева мощным мицелием, стерилизовались, подкислялись соляной кислотой и вторично засевались споровой взвесью Asp. terricola.

Результаты опытов приведены в табл. 8. Они показывают, что активность протеаз гриба благодаря вторичному посеву повысилась до 10 000 ед., а в сочетании с изменением температурного режима в процессе выращивания Asp. terricola с 28 до 18° удалось добиться повышения активности до 30 000 ед.

Таблица 8

Влияние мицелиальных белков на активность протеолитических ферментов

Питательная среда	Условия выращивания	Активность в ед.
Отруби	При 26—28°	2 500
Отруби + водный экстракт из гриба		2 500
Отруби, проросшие мицелием		10 000
Отруби	22 часа при 28°, далее при 18°	10 000
Отруби, проросшие мицелием		30 000

В контроле, где гриб засевался на отруби, к которым добавлялась водная вытяжка из гриба Asp. terricola, активность не изменилась. Это обстоятельство позволяет предполагать, что повышение активности объясняется в первую очередь влиянием белков мицелия на продуцирование протеаз.

На основании полученных результатов нами были внесены соответствующие изменения в технологию выращивания культуры.

Получение препарата с активностью в 10 000 ед.

В отличие от старого способа выращивания противни с засеянными отрубями оставляют при температуре 26—28° только на 20—22 часа до образования белого сплошного мицелия, а затем переносят для созревания спор и высыхания культуры в термостат с температурой 18° на 6—7 дней.

Получение препарата с активностью в 30 000 ед.

Выращивают при 28° 20—24-часовой мицелий, разрыхляют его, увлажняют 100 мл воды, стерилизуют, переносят обратно в противень и вторично засевают 100 мл споровой взвеси. Далее процесс выращивания и высушивания производят так же, как и в предыдущем способе.

Разработанный нами способ получения высокоактивных ферментов был принят в Институте эпидемиологии и микробиологии им. Гамалея АМН, проверен на практике и полностью себя оправдал.

Выводы

1. Накоплению протеаз в культуре Aspergillus terricola на отрубях способствует удлинение вегетативной фазы роста гриба.
2. Удлинение вегетативной фазы роста может быть достигнуто путем переноса мицелия в более низкие температурные условия, так как при этом понижается температура внутри культуры и поэтому в ней длительное время сохраняются условия относительно высокой влажности.
3. Накоплению протеолитических энзимов в культуре Asp. terricola на отрубях способствует обогащение питательной среды мицелиальными белками той же плесени.
4. Повышение активности протеаз с 2500 до 10 000 ед. достигается тем, что выращивают мицелий при температуре 28°, а процесс созревания спор ведут при температуре 18°.
5. Повышение активности протеаз до 30 000 ед. может быть достигнуто, если выросший при 28° первичный мицелий засеять вторично

споровой взвесью той же культуры и дальнейший процесс выращивания вести сначала при 28, а затем при 18°.

Институт эпидемиологии и микробиологии
имени Н. Ф. Гамалея АМН СССР
Москва

Получено 26. X. 1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабакина В. Г. и Замыслов А. Д. Ферментативные препараты из Aspergillus oryzae в кожевенной промышленности. Биохимия, 4, 316, 1939.
2. Виноградова И. Н. Использование протеолитических ферментов плесневых грибов из рода Aspergillus и протеаз овсяного солода при изготовлении питательных сред. Диссертация. ИЭМ им. Н. Ф. Гамалея АМН СССР, М., 1949.
3. Курсанов Л. И. Микология. Гос. учебно-педагогич. изд-во Наркомпроса РСФСР, стр. 113, М., 1940.
4. Пешков М. А. Питательные среды. Микробиологические методы исследования при инфекционных заболеваниях. Медгиз, стр. 92, М., 1949.
5. Стахеева-Каверзнева Е. Д. и Олейникова Е. И. Расщепление белков животного происхождения протеазами из плесневых грибов Aspergillus oryzae. Биохимия, 1, 331, 1936.
6. Фостер Д. Химическая деятельность грибов. Изд-во иностр. литературы, стр. 49, М., 1950.

О ПРОТИСТОЦИДНОМ ДЕЙСТВИИ НЕКОТОРЫХ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

Б. С. Драбкин и *А. З. Иоффе*

Известно, что плесневые грибы, как и бактерии, способны образовывать вещества, обладающие бактериостатическим и бактерицидным действием. Изучению их посвящена обширная литература. В противоположность этому данные о действии низших растений на протистов, насколько нам известно, весьма немногочисленны.

Имшенецкий установил, что хромопарные пигментные микроорганизмы выделяют в окружающую среду пигменты, угнетающие жизнедеятельность амеб и парамеций.

Не исключена возможность, что и плесневые грибы могут образовывать вещества, воздействующие на протистов. Это побудило нас заняться изучением протистоцидных свойств плесневых грибов, результаты которого и составляют предмет настоящего сообщения.

Мы исследовали 25 культур грибов, принадлежащих к 8 различным родам: Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium, Mucor, Penicillium, Thamnidium и Mortierella. Культуры были выделены с различных злаков.

Методика работы была следующая. Чистые культуры изучавшихся грибов выращивались на сахарозо-глюкозо-пептонной жидкой среде при двух температурах: в термостате при 23—24° и в подвале при 0—3°. Через определенный период времени (в термостате 14 дней, а в подвале до 30 дней) жидкая среда, на которой культивировались грибы, отсасывалась, разводилась дестиллированной водой 1 : 5 и испытывалась на протистоцидность. Параллельно колориметрическим методом определялась реакция культурального фильтрата.

В качестве тест-объекта служили парамеции (Paramaecium caudatum), культивировавшиеся на сенном отваре. Капля сенного отвара, содержавшая от 15 до 30 парамеций, наносилась в углубление предметного стекла, к ней добавлялась капля культурального фильтрата, разведенного 1 : 5. Во избежание подсыхания капли предметные стекла помещались во влажную камеру. Через 24 часа под микроскопом определялось состояние парамеций.

В контрольных вариантах к капле сенного отвара с парамециями добавлялась капля стерильной сахарозо-глюкозо-пептонной среды, разбавленной 1 : 5. Так как реакция испытывавшихся культуральных фильтратов из-под различных культур грибов колебалась в пределах pH от 4 до 7, нами ставились 4 контроля с pH, равным 4, 5, 6, 7. Соответствующая реакция устанавливалась подкислением среды соляной кислотой. Результаты опытов сведены в табл. 1.

Из приведенных в таблице данных видно, что фильтраты всех испытанных нами культур Alternaria и Penicillium, а также одной из культур Aspergillus оказали протистоцидное действие на парамеций. Фильтраты культур грибов, принадлежащих к родам Cladosporium, Mucor, Fusarium, Thamnidium и Mortierella, подобного действия не обнаружили. Какой-либо корреляции между протистоцидностью и реакцией среды, как это

Таблица 1

Действие культуральных фильтратов из-под некоторых плесневых грибов на Paramaecium caudatum

(Разведение 1 : 5)

Наименование гриба	Температура выращивания в °	pH фильтрата	Состояние парамеций через 24 часа
Alternaria tenuis № 766	0—3	5,4	Погибли
	23—24	5,4	„
„ „ № 780	0—3	5,6	„
	23—24	5,6	„
„ „ № 798	0—3	5,6	„
	23—24	5,6	„
„ „ № 786	0—3	5,6	Погибло до 50% парамеций
	23—24	7,0	
Aspergillus sp. № 631	0—3	5,0	Погибли
„ terricola № 629	0—3	5,2	Живы
Cladosporium herbarum № 1015	0—3	4,8	„
	23—24	4,4	„
„ „ № 863	0—3	4,6	„
	23—24	4,4	„
„ „ № 803	23—24	4,4	„
Fusarium sp. № 141	0—3	4,0	„
	23—24	7,0	„
„ № 975	0—3	4,2	„
	23—24	7,0	„
„ № 992	0—3	4,2	„
	23—24	7,2	„
Mucor fumosus № 819	0—3	5,4	„
	23—24	5,4	„
„ mucedo № 633	0—3	4,4	„
	23—24	4,4	„
„ oblongisporus № 834	0—3	5,2	„
	23—24	3,8	„
„ silvaticus № 821	0—3	5,4	„
	23—24	5,4	„
„ racemosus № 870	0—3	5,4	„
	23—24	4,2	„
„ „ № 873	0—3	5,4	„
	23—24	5,4	„
„ „ № 878	0—3	5,4	„
	23—24	6,4	„
Penicillium sp. № 505	0—3	4,4	Погибли
	23—24	4,0	„
„ „ № 512	0—3	4,0	„
	23—24	4,2	„
„ „ № 520	23—24	4,4	„
„ „ № 867	0—3	4,0	„
	23—24	5,4	„
Mortierella sp. № 626	0—3	4,4	Живы
	23—24	4,6	„
Thamnidium elegans № 158	0—3	4,2	„
Контроль		4,0	„
		5,0	„
		6,0	„
		7,0	„

видно из табл. 1, установить не удается. Повидимому, некоторые грибки из родов Alternaria, Penicillium и Aspergillus вызывают накопление в окружающей среде веществ, обладающих протистоцидным действием.

Следует отметить, что картина гибели парамеций под действием фильтратов испытанных нами культур Alternaria отличается от картины, наблюдавшейся при действии фильтратов Penicillium.

В последнем случае парамеции как бы фиксируются, окруженные выстреленными трихоцистами, ядра их резко контурируются. Под действием же фильтратов Alternaria на поверхности парамеций появляются гомогенные пузырьки, и парамеции погибают, окруженные этими пузырьками, иногда лизируясь, иногда же сохраняясь в деформированном виде Наблюдающиеся различия в характере реакции парамеций дают основание предполагать, что действующее начало, имеющееся в фильтрате Alternaria, отличается от действующего начала, содержащегося в культуральном фильтрате Penicillium.

При испытании культуральных фильтратов плесневых грибов мы, очевидно, имеем дело с протистоцидным веществом, которое выделяется грибами в окружающую среду. Однако не исключена возможность, что протистоцидный фактор может образовываться и накапливаться в теле самого гриба. В связи с этим нами были поставлены опыты по изучению действия на парамеций экстрактов из грибной массы.

Масса (мицелий и споры) грибов, выращенных на сахарозо-глюкозопептонной жидкой среде при 23—24°, отделялась, высушивалась при 40—45° и экстрагировалась 80%-ным этиловым спиртом. Затем спирт выпаривался на водяной бане, а полученные экстракты маслянистой консистенции испытывались на протистоцидность.

Протистоцидное действие экстрактов изучалось следующим образом. Определенная навеска экстракта разводилась 1 : 100 небольшим количеством этилового спирта, а затем дестиллированной водой. Спирта добавлялось такое количество, чтобы его концентрация в растворе экстракта 1 : 100 равнялась 2%. Из этого исходного раствора (1 : 100) готовились растворы меньшей концентрации 1 : 200, 1 : 400 и т. д. на дестиллированной воде.

К капле сенного отвара с инфузориями добавлялась капля разведенного экстракта определенной концентрации. В контрольных вариантах добавлялась капля раствора спирта соответствующей концентрации. Через 24 часа под микроскопом определялось состояние парамеций. Полученные данные приведены в табл. 2.

Из приведенных в табл. 2 данных видно, что спиртовые экстракты из некоторых плесневых грибов обладают протистоцидным действием в довольно значительных разведениях. Особенно резкое протистоцидное действие обнаружили экстракты из испытанных нами двух культур Fusarium. Эти экстракты сохраняли протистоцидное действие при разведении 1 : 1000.

Дальнейшие опыты показали, что подобным же действием обладают не только спиртовые, но и эфирные экстракты из Fusarium, что свидетельствует о том, что протистоцидное начало, содержащееся в Fusarium, растворимо в спирте и эфире.

Для выяснения вопроса, оказывают ли экстракты из плесневых грибов и, в частности, из Fusarium протистоцидное действие лишь на Paramaecium caudatum или же протистоцидный спектр их более широкий, были поставлены следующие опыты. Из грибной массы Fusarium sp. № 975 готовились эфирные экстракты, которые разводились 1 : 200. Действие приготовленных экстрактов испытывалось на четырех видах протистов: Paramaecium caudatum, Stylonychia mytilus, Opalina ranarum, Nyctotherus cordiformis. Полученные результаты приведены в табл. 3.

Таблица 2

Действие экстрактов из некоторых плесневых грибов на Paramaecium caudatum

Наименование гриба	Разведение экстракта					
	1:100	1:200	1:400	1:600	1:800	1:1000
Alternaria tenuis № 766	++	0	0	0	0	0
„ „ № 780	0	0	0	0	0	0
„ „ № 798	++	++	++	0	0	0
Aspergillus sp. № 631	++	0	0	0	0	0
Cladosporium herbarum № 1015	0	0	0	0	0	0
„ „ № 863	++	0	0	0	0	0
Fusarium sp. „ № 141	++	++	++	++	++	++
„ „ № 975	++	++	++	++	++	++
Mucor fumosus № 819	++	0	0	0	0	0
„ oblongisporus № 834	0	0	0	0	0	0
„ silvaticus № 821	+	0	0	0	0	0
„ racemosus № 870	++	++	0	0	0	0
„ „ № 873	0	0	0	0	0	0
Penicillium sp. № 505	++	++	0	0	0	0
„ „ № 512	++	++	++	0	0	0
„ „ № 520	++	++	0	0	0	0
„ „ № 867	++	0	0	0	0	0
Thamnidium elegans № 158	++	0	0	0	0	0
Mortierella sp. № 626	0	0	0	0	0	0
Контроль (этиловый спирт соответствующей концентрации)	0	0	0	0	0	0

Примечание. 0 — отсутствие протистоцидного действия (парамеции живы); + — умеренная протистоцидность (гибнет часть парамеций); ++ — высокая протистоцидность (погибли все парамеции).

Приведенные данные свидетельствуют о том, что экстракт из Fusarium оказывает протистоцидное действие не только на парамеций, но и на другие испытанные нами виды простейших.

В следующей серии опытов мы пытались выяснить, насколько изменяется протистоцидное действие экстрактов при культивировании плесневых грибов в различных условиях.

С этой целью три культуры фузариума (Fusarium sp. № 1638, Fusarium sporotrichioides № 60/10, Fusarium poae № 60/) выращивались на сахарозо-глюкозо-пептонных средах и картофельном агаре при двух температурах: 23—24° и 0—3°. Исходным материалом для выращивания Fusarium sporotrichioides и Fusarium poae служили культуры соответствующих грибов на просе, хранившиеся в рефрижираторе при 0—2°. Fusarium sp. № 1638 пересевался на питательные среды с музейного штамма, культивировавшегося на картофельном агаре. Исследование культур на протистоцидность произ-

Таблица 3

Действие экстракта из Fusarium sp. на некоторых протистов

(Разведение 1:200)

Объект	Погибли через
Paramaecium caudatum	3—6 мин.
Stylonychia mytilus	15—20 „
Opalina ranarum	12—15 „
Nyctotherus cordiformis	25—30 „

водилось через 30 суток после посева. Грибная пленка с жидкой среды и культуры на агаре подсушивалась при 40—45° и экстрагировалась, как указано выше, 80%-ным этиловым спиртом.

Данные, характеризующие протистоцидность полученных экстрактов, сведены в табл. 4. В таблице приводятся крайние разведения экстрактов, при которых наблюдалась гибель парамеций.

Таблица 4

Действие экстрактов из культур Fusarium, выращенных в различных условиях, на парамеций (Paramaecium caudatum)

Культура	Среда					
	сахарозо-глюкозо-пептонная жидкая		сахарозо-глюкозо-пептонный агар		картофельный агар	
	0—3°	23—24°	0—3°	23—24°	0—3°	23—24°
Fusarium sp. № 168 . . .	1:200	1:1600	—	1:1600	1:200	1:400
„ sporotrichioides № 60/10	1:200	1:1600	1:800	1:1600	1:200	1:100
Fusarium roae № 60/9 . .	1:200	1:200	1:400	1:1600	1:200	1:100

Из таблицы видно, что протистоцидное действие экстрактов из грибов, выращенных на глюкозо-сахарозо-пептонных средах, выше, нежели из грибов, культивировавшихся на картофельной среде. В большинстве вариантов опыта экстракты из грибов, выращивавшихся при повышенной температуре (23—24°), оказались более протистоцидными, однако экстракты из культур Fusarium sporotrichioides и Fusarium roae, выращенных на картофельном агаре, обнаружили несколько более сильное действие при пониженной температуре (0—3°).

Полученные данные позволяют думать, что при подборе определенных условий культивирования можно добиться значительного усиления протистоцидного действия плесневых грибов.

Выводы

1. Культуральные среды, на которых выращивались грибы из рода Alternaria, Penicillium, Aspergillus, содержат вещества, оказывающие протистоцидное действие на парамеций (Paramaecium cadatum).

2. Спиртовые экстракты из грибной массы некоторых культур Alternaria, Penicillium, Mucor и Fusarium обладают протистоцидностью по отношению к парамециям. Особенно резкое протистоцидное действие оказывают экстракты из культур представителей рода Fusarium.

3. Накопление протистоцидно действующих веществ в грибной массе культур Fusarium зависит от условий выращивания: состава питательной среды и температуры.

Чкаловский медицинский институт

Получено 27. IX. 1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

Имшенецкий А. А. Экология пигментных микроорганизмов. II. Антагонистическое действие пигментов, Микробиология, XVI, 3, 1947.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС У РАСТЕНИЙ И ДЕГЕНЕРАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГОЛОВНИ

I. ПАТОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС И ФАКТОРЫ СРЕДЫ

Т. Д. Страхов

А. Патологический процесс у растений

Со второй половины XIX в., вплоть до торжества идей мичуринского учения о наследственности и стадийности развития организмов, в фитопатологии господствовало положение, что для решения вопроса о радикальных мерах борьбы с болезнями имеет значение только познание биологических особенностей и наследственных свойств паразита и растения. Пластичность растения и паразита, многообразная изменчивость их под влиянием условий жизни, а следовательно, изменчивость взаимосвязей растения и паразита — в старой «рецептурной» фитопатологии при этом игнорировались. Вследствие этого все практические мероприятия, рекомендовавшиеся сельскому хозяйству, сводились только к борьбе с болезнетворными организмами. Приемы же оздоровления растений путем использования изменчивости растения и паразита под влиянием естественно-исторической среды и факторов, создаваемых человеком (приемы культуры, удобрения и т. п.), не разрабатывались.

Такое положение находит свое объяснение в исторически сложившихся условиях развития научной мысли и в порочности господствовавшей в науке методологии. Убеждение, разделявшееся многими исследователями, о неизменяемости наследственных свойств организмов исключало возможность практического использования многих естественно-исторических и агротехнических факторов для оздоровления растений путем изменения свойств растений и паразита.

Нельзя в то же время сказать, что экологические условия и приемы агротехники вовсе не использовались. В старой и современной литературе указывается даже на наличие экологического направления исследований в фитопатологии. Однако почти вся специальная и учебная литература, как за границей так и у нас, вплоть до августовской сессии ВАСХНИЛ 1948 г. ограничивала очень узкими рамками возможности использования экологических и агротехнических факторов для борьбы с болезнями растений. Факторы внешней среды многими рассматривались лишь как фон, на котором протекает явление. Считалось, что этот фон, т. е. комплекс факторов внешней среды, не способен изменять наследственные качества растения и паразита, а может лишь благоприятствовать развитию паразита или растения или его затормаживать.

Отсюда делались выводы, что факторы среды (включая приемы агротехники) могут служить лишь вспомогательными средствами в борьбе с болезнями. При этом изучение роли факторов среды ограничивалось направленностью внимания только на паразита. Считалось, что развитие последнего при том или ином сочетании условий среды может быть задержано, полностью приостановлено вплоть до гибели паразита, но без изменения его врожденных качеств и биологических свойств.

Роль факторов среды и агротехнических приемов, таким образом, сводилась к роли санитарно-гигиенических и истребительных мероприятий. В этом заключалась ограниченность и односторонность трактовки значения факторов внешней среды в экологических работах, связанных с изучением болезней растений. В этом же скрывался и основной методологический недостаток исследований роли экологических факторов в развитии заболеваний.

Односторонняя направленность внимания на возбудителя болезни теоретически обосновывалась тем, что в болезненных явлениях активную роль, якобы, играет только паразит с присущими ему врожденными биологическими особенностями, растение же является лишь пассивным субстратом, на который паразит «нападает» и где он развивается. Такой взгляд имел широкое распространение и находил место даже в учебной литературе вплоть до 1948 г.

Естественно, что при указанном состоянии теоретических основ учения о болезненных явлениях, в фитопатологии отсутствовало и самопонятие о патологическом процессе как о динамическом явлении.

Не приходится доказывать, что теоретическая трактовка отдельных фактов и сложных явлений определяет и конкретные пути познания их. Еще в 1921—1923 гг. мы обнаружили факты оздоравливающего влияния удобрений и некоторых приемов агротехники в отношении головни хлебных злаков. Эти факты не укладывались в существовавшие тогда представления о патогенезе головни. Обнаруженные факты показывали полную несостоятельность представлений, что болезненный процесс у растений определяется только паразитом и его врожденными свойствами, а растение является пассивным субстратом, обладающим неизменными наследственными видовыми или сортовыми свойствами, благоприятствующими или препятствующими поселению в нем паразита. На основании этого, и, повидимому, впервые, нами было сформулировано новое понимание патологического процесса (Страхов [3]; Страхов и Спангенберг [6]). Мы писали тогда (1923): «Патологический процесс в растительном организме, вызванный паразитом, протекает неодинаково. Особенности в развитии этого процесса обуславливаются прежде всего свойствами растения-хозяина и свойствами паразита, и затем целым рядом условий внешней среды. Поэтому при всестороннем изучении болезней растений инфекционного характера следует иметь в виду три стороны: 1) непосредственное изучение причин или возбудителей болезни; 2) изучение особенностей больного растения, рассматриваемых не только как одностороннее проявление деятельности возбудителя или же пораженного растения, а как результат совместного их действия, т. е. изучение взаимоотношений паразита и питающего его растения и 3) изучение влияния условий внешней среды на развитие патологического процесса. В результате постоянного воздействия паразита на растение и растения на паразита, регулируемого внешними условиями, и складывается ход болезни.

Влияние условий внешней среды (климат, почва, удобрение и пр.) может проявляться или непосредственно и одновременно на растении и на паразите, или же, сильно сказываясь на одном из них, косвенно уже воздействовать и на другого. Поэтому изучение факторов внешней среды, одновременно действующих на растение и на паразита и нарушающих обычные между ними взаимоотношения то в пользу растения, то в пользу паразита, может давать ценный материал не только для практических мероприятий, но и для уяснения сущности этих взаимоотношений.

Взаимоотношения между паразитом и растением-хозяином, вообще говоря, необычайно сложны. Так, явления невосприимчивости или слабой восприимчивости растения к инфекционным заболеваниям, т. е. явления иммунитета, есть, в сущности, нарушение взаимоотношений между паразитом и питающим растением в пользу последнего. Эти взаимоотноше-

ния регулируются целым рядом то врожденных, то приобретенных свойств, присущих или появляющихся у растения или паразита».

Такое понимание патологического процесса, высказанное более четверти века назад, в условиях ожесточенной идеологической и политической борьбы между силами реакции и прогресса, нашло должное место в молодой советской фитопатологии и получило свое развитие в исследованиях и практике социалистического сельского хозяйства.

В соответствии с принципами мичуринской агробиологии, творчески развиваемой Лысенко [2], патологический процесс в растительном организме мы и теперь понимаем как процесс, возникающий и развивающийся в результате взаимодействия между растением, паразитом и меняющимися факторами внешней среды. Это процесс динамический, в развитии которого играют роль и паразит, и растение, и среда, а не статическое состояние, определяемое только наследственными особенностями паразита и растения. Болезненный процесс протекает неодинаково, он изменчив и поддается управлению. Управлять им можно путем подбора природных факторов и факторов, создаваемых самим человеком. При помощи создаваемых условий жизни и питания мы можем изменять наследственные свойства растения и усиливать устойчивость к заболеваниям. При помощи факторов среды мы можем изменять свойства возбудителей и ослаблять их вирулентность. Следовательно, при помощи факторов среды и условий питания можно нарушать эволюционно сложившиеся взаимоотношения паразита и растения, т. е. создавать такие условия культуры, когда растение в силу появляющихся новых качеств делается стойким и даже иммунным к заболеванию.

Б. Роль удобрений и микроэлементов в нарушении взаимоотношений между паразитом и растением

Указанное понимание патологического процесса значительно расширило практические возможности по изысканию новых способов борьбы с головней. Оно открыло заманчивые перспективы — изменять развитие патологического процесса путем нарушения взаимосвязей макро- и микроорганизма и тем добиваться оздоровления растений от болезней.

С 1921 по 1931 г. в фитопатологическом отделе Харьковской областной сельскохозяйственной опытной станции нами были проведены разносторонние полевые опыты по изучению влияния приемов агротехники и особенно удобрений на головню хлебных злаков.

Этими, а также последующими нашими работами было установлено, что азотные, фосфорные, калийные и навозные удобрения, равно как ряд других приемов агротехники, являются надежным средством повышения устойчивости злаков к головне. Обширные данные наших опытов лишь частично были опубликованы нами (Страхов [3, 4, 5], Страхов и Спангенберг [6]) и после передачи всех материалов Украинскому институту зернового хозяйства в связи с реформой Харьковской областной сельскохозяйственной опытной станции также частично опубликованы Фоминым [8] и Фоминым и Ноздрачевым [9]. Большая же часть неопубликованных материалов погибла в период Великой Отечественной войны 1941—1945 гг. в Днепропетровске.

С 1937 г. в руководимой нами лаборатории фитопатологии Харьковского государственного университета, а с 1947—1948 гг., кроме того, на кафедре фитопатологии Сельскохозяйственного института и в лаборатории фитопатологии Института генетики и селекции АН УССР были начаты работы по изучению роли микроэлементов в повышении устойчивости растений к заболеваниям. Выполненные в указанных учреждениях полевыми, гистологическими и отчасти физиологическими и биохимическими методами работы показывают, что изменением условий жизни

и питания растений действительно можно повысить стойкость растений к таким заболеваниям, как головня, гельминтоспориоз и отчасти ржавчина.

Так, в 1937—1940 гг. в нашей университетской лаборатории изучалось влияние бора, марганца и меди на повышение стойкости пшеницы к твердой головне (Лукьяненко [1]). Микроэлементы были взяты из расчета действующего начала на 1 га: бора — 3 кг, марганца — 2,5 кг, меди 5 кг (в виде H_3BO_3, $KMnO_4$, $CuSO_4$). В результате исследований установлено, что бор, марганец и медь в несколько раз повышают устойчивость яровой пшеницы (сорт Цезиум 111 и Мелянопус 69) к твердой головне. Наилучший эффект был получен от сочетания микроэлементов с NPK.

Таблица 1

Влияние железа и натрия на повышение устойчивости овса к пыльной головне (1941 г.)

Схема опыта	Средний процент поражения из трех повторностей	
	Харьковский 595	Советский 339
Контроль (без удобрения)	16,4	1,5
Навоз	7,6	0,9
NPK	5,6	1,0
NPK + $FeSO_4$	1,6	0,3
NPK + NaCl	2,0	0,2

В той же лаборатории Ярошенко [10] показала положительную роль натрия и железа (по 3 кг действующего начала на 1 га) в повышении устойчивости двух сортов овса: Харьковский 596 — поражаемый и Советский 339 — устойчивый к пыльной головне Ustilago avenae (Pers.) Jens. Для иллюстрации полученных результатов приводим выборочные данные полевого опыта 1941 г. (табл. 1).

Как видно из табл. 1, железо в сочетании с NPK (по 50 кг действующего начала на 1 га) повысило устойчивость поражаемого сорта в 10 раз, а устойчивого — в 5 раз; натрий же повысил устойчивость обоих сортов в 7—8 раз.

В 1949 г. нами совместно с Ярошенко [7] были получены материалы, говорящие о возможности получения более высокого эффекта при введении некоторых микроэлементов в питание растений. Приводим данные испытаний марганца, цинка, железа, меди (по 3 кг действующего начала на 1 га и никеля 1,5 кг) (табл. 2).

Таблица 2

Схема опыта	Средний процент поражения из четырех повторностей		Схема опыта	Средний процент поражения из четырех повторностей	
	Нутанс 08/71	Юбилейный 1386		Нутанс 08/71	Юбилейный 1386
Контроль (без удобрения)	12,3	4,0	$MnSO_4$	5,2	0,0
NPK	8,3	2,4	NPK + $CuSO_4$	3,5	0,0
$CuSO_4$	3,3	0,1	NPK + $FeSO_4$	2,0	0,2
$FeSO_4$	6,2	0,9	NPK + $ZnSO_4$	3,1	0,1
$ZnSO_4$	4,2	0,05	NPK + $NiSO_4$	0,9	0,1
$NiSO_4$	5,7	0,0	NPK + $MnSO_4$	0,37	0,0

Как видно из приведенных в табл. 2 цифр, марганец и никель в сочетании с NPK дали почти полное оздоровление ячменя от каменной головни. У сорта Нутанс 08/71 поражение по никелю снижено в 13 раз и еще больше по марганцу (в 33 раза).

У устойчивого сорта юбилейный 1386 по марганцу поражение вовсе отсутствовало, а по никелю почти сведено к нулю. Из этой таблицы видно, что все микроэлементы дают наилучший эффект в сочетании с NPK.

Для иллюстрации значения микроэлементов в нарушении взаимосвязей растения с патогенным микроорганизмом приводим данные совместных с Ярошенко опытов за 1948/1949 г. по стеблевой головне Tuburcinia occulta (Wallr.) Liro для озимой ржи типа Петкусской (табл. 3).

Указанные в табл. 3 микроэлементы испытывались в дозировках: никель и бор из расчета 1,5 кг, остальные — 3 кг действующего начала на 1 га.

Таблица 3

Влияние микроэлементов на повышение устойчивости озимой ржи к стеблевой головне (1948/1949 г.)

Схема опыта	Средний процент поражения из четырех повторностей
Контроль	17,1
NPK + $CuSO_4$ . .	11,8
NPK + $FeSO_4$ . .	3,4
NPK + $NiSO_4$ . .	4,8
NPK + $ZnSO_4$ . .	0,9
NPK + H_3BO_3 . .	3,1
NPK + NaCl . . .	11,5

Как видно из данных табл. 3, микроэлементы в сочетании с NPK оказали разное влияние. Никель, железо и бор снизили пораженность в 3—6 раз, медь и натрий — в $1^1/_2$ раза и лишь цинк дал большой эффект (снижение в 18—19 раз).

При сравнении данных, приведенных в табл. 1, 2 и 3, видно, что влияние различных микроэлементов на разные виды головневых заболеваний злаков неодинаково, и это вполне естественно. При указанном выше понимании патологического процесса мы не можем ожидать здесь единообразия. При изменении питания и других условий происходят изменения в деятельности ферментативного аппарата растений, что изменяет среду, к которой эволюционно приспособился патогенный организм.

Гистологические и биохимические исследования, проводимые в нашей лаборатории [1, 10], показывают, что под влиянием микроэлементов в растении, вследствие изменений в обмене веществ, видимо, происходят изменения в гуморальных свойствах растений, которые в свою очередь сказываются на паразите, находящемся в тканях растения. Так, мы наблюдали, что у растений, получивших в питание микроэлементы, активность фермента каталазы повышалась, мицелий гриба был угнетен, что выражалось в уменьшении его диаметра, в уменьшении количества нитей мицелия в тканях и, наконец, в резорбировании мицелия. Резорбирование мицелия в тканях устойчивых сортов — явление обычное, при внесении микроэлементов в почву для питания растений наблюдается в большом количестве и у поражаемых сортов, т. е. у поражаемого сорта появляются реакции, сходные с таковыми у естественно-иммунных сортов.

В связи с ограниченностью объема, установленного для статьи, мы не имеем возможности привести по этому вопросу полные данные наших исследований, которые иллюстрировали бы высказываемые нами положения. Явлениям дегенерации возбудителей головни посвящена вторая часть статьи.

Выводы

1. Во изменение ограниченности существовавших теоретических положений патологический процесс у растений следует рассматривать как процесс динамический, возникающий и развивающийся в результате взаимодействия между растением, паразитом и меняющимися факторами внешней среды.

2. При помощи удобрений, микроудобрений и некоторых других прие-

мов агротехники, изменяющих условия роста и развития растений и их свойства, можно нарушать эволюционно сложившиеся взаимоотношения между патогенным организмом и растением в сторону повышения иммунных свойств растений.

3. Под влиянием некоторых микроэлементов (натрия, марганца, никеля, цинка и железа) устойчивость ячменя, овса и ржи удавалось повышать по разным схемам опыта от 5 до 19 раз.

4. Под влиянием удобрений и микроэлементов у поражаемых сортов появляются реакции, сходные с таковыми у естественно иммунных сортов (изменение активности каталазы, резорбирование мицелия и др.).

Институт генетики и селекции АН УССР
и
Научно-исследовательский институт
биологии
Харьковского государственного
университета

Получено 26.X.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лукьяненко И. Е. К экологии и физиологии пшеницы, пораженной твердой головней Tilletia tritici (Bjerk) Wint. Диссертация (рукопись), фонд Центр. научной библиотеки Харьковского гос. ун-та, Харьков, 1940.
2. Лысенко Т. Д. Агробиология. М., 1948.
3. Страхов Т. Д. О влиянии полеводственных факторов на головню хлебных злаков. 4-й Всеросс. энтомо-фитопатологический съезд. М., 1922.
4. Страхов Т. Д. Отдел фитопатологии Харьковской областной сельскохозяйственной опытной станции. Сб. Достижения с.-х. опытных станций Украины. Изд. Радянський селянин, стр. 67—83, Харьков, 1928.
5. Страхов Т. Д. Агротехнический метод борьбы с болезнями растений, его значение и перспективы. Бюлл. VII Всес. съезда по защите растений, № 9, 1932.
6. Страхов Т. Д. и Спангенберг Г. Е. К вопросу о влиянии полеводственных факторов на поражаемость хлебных злаков головней. Журн. С.-х. опытное дело, № 2, Харьков, 1923.
7. Страхов Т. Д. и Ярошенко Т. В. Роль микроэлементов в повышении устойчивости растений к заболеваниям. Рефераты докладов на конференции по микроэлементам. Изд. АН СССР, М., 1950.
8. Фомин Е. Е. Использование сортовых свойств растений в борьбе с болезнями. Украинский научно-иссл. ин-т зернового хозяйства. Тр. Ин-та, № 1, Харьков — Днепропетровск, 1935.
9. Фомин Е. Е. и Ноздрачев К. Г. Агротехника в борьбе с болезнями растений. Украинский научно-иссл. ин-т зернового хозяйства, Тр. Ин-та, № 1, Харьков — Днепропетровск, 1935.
10. Ярошенко Т. В. Гистология паразитизма Ustilago avenae (Pers.) Jens. в связи с различиями устойчивости сортов овса к головне. Канд. диссертация (рукопись), фонд Центр. научной библиотеки Харьковского гос. ун-та, Харьков, 1946.

ВИРУЛЕНТНОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРЫ ПАРАЗИТА РЖАВЧИНЫ DARLUCA FILUM (BIV.) CAST.

Н. С. Федоринчик

По литературным данным, гриб Darluca filum выступает иногда как серьезный биотический фактор, ограничивающий развитие ржавчинных грибов многих видов, в том числе и ржавчины зерновых культур.

В литературе имеется указание о том, что удалось получить чистую культуру D. filum. Однако не указывается ни методов, при помощи которых удалось осуществить это, ни питательной среды, на которой культивировался паразит.

Мы попытались эмпирически подобрать питательные среды. Плодоношение D. filum было нами получено на картофельном агаре (с содержанием 20% картофеля, 3% агар-агара и 0,01% лимонной кислоты) и на гороховом агаре (7% гороха и 3% агар-агара).

Выделение гриба в чистую культуру сводилось к следующему: свежесформировавшиеся и еще недозревшие (не успевшие потемнеть) пикниды высевались на одну из указанных питательных сред в чашки Петри или пробирки непосредственно с естественного субстрата. В качестве последнего служили уредоспоры бурой ржавчины на листьях пшеницы, в которых были заключены пикниды D. filum. Пикниды, образовавшиеся на искусственных питательных средах, по внешним признакам ничем не отличались от тех пикнид, которые обычно наблюдаются на естественном субстрате.

Затем были испытаны и другие питательные среды: кукурузная, соевая, пшеничная, морковная, свекольная, рисовая и другие агаровые среды, а также ломтики моркови, картофеля, брюквы, свеклы столовой и сахарной, зерновки кукурузы, пшеницы, овса, гороха, риса, ячменя и др.

Неоднократные пересевы показали, что на различных питательных средах, при одних и тех же условиях плодоношение D. filum проявлялось с неодинаковой интенсивностью. Нами был поставлен соответствующий опыт с 23 питательными средами. Этим опытом было установлено, что наиболее обильно пикниды образуются на ломтиках моркови, зерновках овса и кукурузы, а также на кукурузном, картофельном, морковном и пшеничном агаре.

В природе на естественном субстрате в пределах температур 12—28° период развития D. filum равен 5—7 дням. Чтобы выяснить период развития паразита на искусственных питательных средах, мы испытали 10 наиболее пригодных для пикнидообразования питательных сред в пределах температур от 8 до 24°.

Среды готовились частью в химических пробирках, частью в колбочках емкостью в 150 мл. Культура паразита бралась с ломтиков моркови. Посев производился водной суспензией спор.

Опыт повторялся три раза, для каждой среды и заданной температуры — в четырех параллельных пробирках и в четырех колбочках. Результаты опыта представлены в табл. 1.

Приведенные в табл. 1 данные показывают, что резких различий в скорости плодоношения на подобранных нами питательных средах по сравнению с естественным субстратом не наблюдается. Некоторая за-

Таблица 1

Скорость образования пикнид Darluca filum в днях на различных питательных средах в зависимости от температуры

Питательная среда	Температура								
	8°	11°	13°	15°	17°	18°	21°	22°	24°
Зерна сои	12	—	8	—	7	—	—	—	—
„ кукурузы	12	—	10	—	6	—	—	6	—
Ломтики картофеля	12	—	—	6	—	—	6	5	6
Зерна пшеницы	12	—	6	—	—	—	—	—	—
Ломтики моркови	—	10	9	—	—	—	7	—	6
Зерна овса	—	—	9	—	7	—	6	6	—
Кукурузный агар	—	—	12	11	—	9	—	—	6
Пшеничный агар	—	—	19	18	—	13	—	9	—
Картофельный агар	—	—	—	—	—	8	—	7	—
Агар — отруби овсяные	—	—	—	—	—	8	7	—	—
Естественный субстрат	13	—	4	5	5	—	—	6	—

держка в образовании пикнид отмечается на пшеничном и кукурузном агаре. Все остальные испытанные среды почти не дали отклонений.

Подбор питательных сред, пригодных для массового накопления паразита, не давал еще оснований судить о вирулентности культуры гриба, полученной на той или иной питательной среде. В связи с этим необходимо было дать оценку средам с точки зрения вирулентности культуры гриба, выращиваемой на них. Такую оценку мы произвели в отношении 9 питательных сред по следующей методике. В сосуды высевались семена пшеницы Украинка. В фазе четвертого листа на растения наносилась суспензия уредоспор бурой ржавчины в смеси с суспензией спор D. filum. Опыты ставились отдельно на каждой из перечисленных питательных сред. Для испытания каждой питательной среды было взято 10 сосудов и дополнительно по одному контрольному сосуду; контрольные сосуды инокулировались только суспензией спор ржавчины.

Растения как до нанесения на них суспензий спор обоих грибов, так и после этого находились в оранжерее в одних и тех же условиях, приближающихся к естественным в период июля.

Через месяц после нанесения суспензии на растения производился учет развития ржавчины и ее паразита. Ржавчина учитывалась по измененной шкале № 2. D. filum учитывался путем глазомерного определения процента пустул, пораженных паразитом. Результаты учета представлены в табл. 2.

Таблица 2

Вирулентность культуры Darluca filum, полученной на различных питательных средах

Питательная среда, на которой выращивалась культура	Развитие Puccinia triticina в %	% пустул, пораженных D. filum	Истинный процент развития ржавчины
Морковь	16	78	3,5
Контроль	50	0	50,0
Овес	18	65	6,3
Контроль	40	0	40,0
Кукуруза	18	53	8,4
Контроль	25	0	25,0
Кукурузный агар	24	49,6	12,1
Контроль	40	0	40,0
Овсяный агар	10	42	5,8
Контроль	25	0	25,0
Пшеничный агар	15	36	9,6
Контроль	32	0	32,0
Соевый агар	13	15	11,0
Контроль	23	0	23,0
Картофельный агар	22	19	17,8
Контроль	40	0	40,0

Наиболее вирулентной оказалась культура, взятая с ломтиков моркови. Высокую вирулентность обнаружили культуры, выросшие на овсе и овсяном агаре. Культуры гриба с остальных сред проявляли более низкую вирулентность.

Эффективность культуры Darluca filum

В описанном выше опыте на растения наносилась суспензия спор ржавчины и ее паразита одновременно. В природных условиях чаще имеет место неодновременное попадание спор двух грибов на растение. В одних случаях споры паразита попадают на растение в тот момент, когда ржавчина уже проявилась, в других — за несколько дней до того, как на растение попадут споры ржавчины и т. д. Чтобы выяснить, при каких сроках попадания спор паразита его действие на ржавчину наиболее эффективно, мы провели соответствующий опыт в двух сериях.

Первой серией опыта имелось в виду выяснить эффективность культуры паразита при нанесении его спор на растения в пределах 1—10 дней после заражения ржавчиной. Для этого в 50 сосудов были высеяны семена пшеницы Украинка. В фазе четвертого листа все растения одновременно инокулировались уредоспорами Puccinia triticina. Сразу после нанесения на растения суспензии спор ржавчины все сосуды распределялись на 10 подгрупп, по 5 сосудов в каждой. Четыре сосуда из каждой подгруппы в последующем инокулировались суспензией спор D. filum, а один оставлялся контрольным. На растения первой подгруппы суспензия спор D. filum была нанесена в тот же день, а на растения всех остальных подгрупп такая же суспензия наносилась с интервалом через сутки на очередную подгруппу. Таким образом, на растения последней подгрупы суспензия была нанесена на 10-й день после инокуляции первой подгруппы.

Вторая серия опытов отличалась от первой только тем, что сначала была нанесена на растения суспензия спор D. filum, а затем в таком же порядке, как и в первой серии (т. е. через каждые сутки), наносилась суспензия спор P. triticina.

Суспензия спор D. filum представляла собой их смесь, взятую с различных питательных сред (морковь, овес, кукуруза, картофель).

Опыт ставился в оранжерее, где температурный режим поддерживался в пределах оптимума для обоих грибов.

Результаты опыта первой серии представлены в табл. 3, а второй — в табл. 4.

Как можно видеть из табл. 3, в описанном опыте высоковирулентными оказались культуры D. filum, наносимые на пшеницу как в первый, так и в десятый день после заражения ее ржавчиной. Различия в зависимости от сроков нанесения суспензии спор были незначительны.

Данные второй серии опыта (табл. 4) сходны с таковыми первой серии.

Если рассматривать полученные результаты лишь с точки зрения степени воздействия паразита на ржавчину, не касаясь при этом состояния растения, то можно сделать следующий вывод: независимо от того, попадают ли споры паразита на растение в пределах 10 дней до и после заражения их ржавчиной, эффективность культуры D. filum остается достаточно высокой. В этом можно легко убедиться, рассматривая графу «истинный процент развития ржавчины» (табл. 3 и 4). Так, например, в 3-й подгруппе (табл. 3) степень развития ржавчины в случае заражения D. filum достигала только 10%, тогда как в контроле — 65%. Разница в 55% является показателем того, что паразит подавил мицелий ржавчины еще внутри ткани листа и в результате этого пустулы не образовались. Кроме того, из той части пустул (10%), которые успели образоваться, 98% оказались заполнены паразитом. Таким образом, неповрежденных пустул, способных разносить инфекцию ржавчины, оказалось только 0,2%.

Если даже взять 10-ю подгруппу (табл. 3), где степень развития ржавчины в опыте достигает 56% и разница с контролем составляет

Таблица 3

Результаты нанесения на растения спор Darluca filum после заражения их Puccinia triticina

№ подгруппы и контроль	Дата заражения растений P. triticina	Дата нанесения на листья растений D. filum	Развитие ржавчины в %	% пустул, пораженных D. filum	Истинный процент развития ржавчины
1-я подгруппа	8.V	8.V	Выпала из опыта		
2-я подгруппа		9.V	10	74	2,6
Контроль		—	65	0	65,0
3-я подгруппа		10.V	10	98	0,2
Контроль			65	0	65,0
4-я подгруппа		11.V	25	97	1,0
Контроль			40	0	40,0
5-я подгруппа		12.V	23,7	94	1,4
Контроль			65	0	65,0
6-я подгруппа		13.V	26,7	95,7	1,1
Контроль			65	0	65,0
7-я подгруппа		14.V	32,5	70,5	9,6
Контроль			85	0	85,0
8-я подгруппа		15.V	15	98,0	0,3
Контроль			65	0	65,0
9-я подгруппа		16.V	20	86,5	2,9
Контроль			65	0	65,0
10-я подгруппа		17.V	56	91,7	5,0
Контроль			65	0	65,0

Таблица 4

Результаты нанесения на растения спор Darluca filum после заражения их Puccinia triticina

№ подгруппы и контроль	Дата нанесения на растение культуры D. filum	Дата заражения растений P. triticina	Развитие ржавчины в %	% пустул, пораженных D. filum	Истинный процент развития ржавчины
1-я подгруппа	9.V	9.V	22,5	94	1,4
2-я »		10.V	25	95	1,2
3-я »		11.V	22,5	90	2,2
4-я »		12.V	22,5	80	4,5
5-я »		13.V	38,7	70	11,7
6-я »		14.V	26,2	63,7	12,4
7-я »		15.V	8,7	45	4,9
8-я »		16.V	18,7	56.2	8,4
9-я »		17.V	10	60	4,0
10-я »		18.V	13,7	93,5	1,1

только 10%, то и в этом случае 91,7% пустул поражены паразитом и только 5% остались свободными от него.

Следовательно, паразит может выступать как мощный биотический фактор, который не только в состоянии снизить развитие ржавчины до размеров хозяйственно неощутимых, но, кроме того, может свести к минимуму запас ржавчинной инфекции.

Приведенные показатели эффективности D. filum являются результатом опытов, проведенных только в оранжерее, где основные факторы среды можно было относительно легко регулировать. Поэтому на описанные здесь опыты мы смотрим только как на принципиальное решение вопроса о возможности применения культуры паразита, полученной на искусственных питательных средах. Перенесение этих опытов в полевые условия потребует еще ряда дополнительных исследований, связанных главным образом с условиями существования и развития паразита в природе.

Реакция растения пшеницы

В предыдущем разделе мы рассмотрели эффективность действия D. filum на ржавчину, не касаясь при этом состояния самого растения. Между тем для растения должно быть не безразличным, поселяется ли на нем только один гриб-паразит или в дополнение к нему поселяется и другой гриб, хотя непосредственно и не развивающийся за его счет.

Проведенные нами наблюдения показали следующее. В тех случаях, когда культура паразита наносится на растения до проявления ржавчины, т. е. в период ее инкубации, проявление D. filum может быть трех типов.

Первый тип: листья растения нормальной зеленой окраски, и на них вовсе отсутствует плодоношение ржавчины. Плодоношение паразита имеет место в виде единичных пикнид, разбросанных по поверхности пластинки листа, иногда они и вовсе отсутствуют. Такой тип проявления D. filum чаще наблюдается при нанесении его культуры на растения через один-два дня после заражения их ржавчиной.

Второй тип: на листьях растения появляются пятна пожелтения. Плодоношение ржавчины имеет место в виде отдельных пустул. Плодоношение паразита — в виде единичных пикнид, а на пожелтевших участках — пикниды плотными группами. Такой тип проявления чаще наблюдается при нанесении культуры паразита на растения за один-два дня перед проявлением ржавчины.

Третий тип: листья растения теряют нормальную окраску, имеют вид сплошного некроза и желтеют. Пустулы ржавчины единичные и группами. Пикниды паразита плотно покрывают либо всю поверхность пластинки листа, либо большую часть ее. Такой тип проявления обычно наблюдается при нанесении на растения культуры паразита после появления пустул ржавчины.

В тех случаях, когда культура паразита наносится на растения за один-два дня и больше до заражения их ржавчиной, проявление паразита соответствует первому типу.

В тех же случаях, когда культура паразита наносится на растения после того как ржавчина в различной степени проявилась и спороносит, мы имеем дополнительных два типа проявления паразита. Первый тип: листья растения теряют нормальную окраску и имеют вид сплошного некроза, а отдельные пожелтевшие участки засыхают. Свободные от паразита пустулы встречаются единично. Основная масса пустул переполнена пикнидами паразита. Второй тип: листья растения желтеют и засыхают. Пластинка листа сплошь покрыта пустулами ржавчины, которые в свою очередь заполнены почти сплошь пикнидами паразита. Свободные от паразита пустулы встречаются либо единично, либо небольшими группами.

Состояние растений при всех описанных выше типах проявления обоих грибов сравнивалось с состоянием контрольных растений, которые заражались только ржавчиной. В итоге такого сравнения выявилось, что пожелтение и усыхание пластинки листа у растений, на которых разви-

ваются оба гриба, как правило, наступают раньше, чем у контрольных (при всех описанных типах, кроме первого). Иначе говоря, борьба между двумя грибами, которая протекает в самом растении, оказывает на последнее более серьезное отрицательное действие в отношении скорости усыхания пластинки листа, чем это имеет место при наличии основного паразита — ржавчины. Правда, такое явление наблюдается лишь в тех случаях, когда паразит ржавчины по различным причинам не в состоянии был подавить ее в начальной фазе развития, т. е. в начале инкубационного периода.

Более серьезное угнетение растения в процессе борьбы на нем двух грибов, чем при наличии только основного паразита — ржавчины, объясняется следующими причинами. Как известно, и ржавчина, и ее паразит D. filum образуют мицелий внутри ткани листа растения. Плодоношение как у одного, так и у другого гриба образуется на поверхности пластинки листа. Совершенно понятно, что если ржавчина успевает образовать мощный мицелий и даже плодоношение, то тем самым для паразита обеспечено неограниченное питание, а следовательно, и образование в свою очередь мощного мицелия и обильного плодоношения. В этом случае разрушение ассимиляционного аппарата у растения будет протекать интенсивнее и приводить к более быстрому усыханию пластинки листа.

Совершенно иное мы наблюдаем в тех случаях, когда паразит успевает разрушить мицелий ржавчины в начале его развития. Здесь борьба двух грибов имеет весьма ограниченный масштаб. Подавив мицелий ржавчины, паразит тем самым лишает себя питательной среды, в связи с чем успевает образоваться лишь незначительное количество единично разбросанных по поверхности пластинки листа пикнид. Лист в этом случае не испытывает заметного угнетения и развивается вполне нормально.

Из всего этого мы должны сделать следующий вывод. Применение паразита для борьбы с ржавчиной может быть оправдано при условии подавления ее в начале развития, что совпадает с первыми фазами вегетации растений. Задержка в этот период развития ржавчины даже ценой потери (относительно более быстрой, чем в случае поражения только ржавчиной) молодых листьев первых ярусов и тем самым сохранение здоровыми листьев последующих ярусов в последующих фазах вегетации растений с избытком компенсирует отрицательное влияние D. filum на состояние растения.

Методика массового накопления культуры гриба Darluca filum на искусственных питательных средах

Так как наш гриб является облигатным паразитом, то понятно, что на искусственных питательных средах он приживается значительно хуже, чем всякие другие случайные сапрофитные грибы или бактерии. Следовательно, проникновение посторонних организмов даже в самых незначительных количествах быстро забивает его.

Специально поставленный опыт по методике пересева культуры D. filum позволил установить, что наилучшей исходной средой для последующего пересева являются зерновки овса. Для переноса их из пробирки в пробирку или в колбу, или другую посуду удобнее всего пользоваться легко пружинящим пинцетом.

Мы производили посев главным образом в матрацы (колбы «РУ»). Они портативны (при объеме в 1000 мл) и оказались очень удобными для массового накопления культуры гриба. В результате испытаний оказались наиболее пригодными для массового накопления культуры гриба следующие питательные среды: ломтики моркови и картофеля, зерновки овса и кукурузы.

Очищенная и промытая морковь и картофель нарезаются ломтиками в виде кубиков размером около 1 $см^3$. Эти ломтики еще раз тщательно

промываются в обычной воде и переносятся в колбу, примерно на $^1/_3$ объема. Затем колбы закрываются пробками и подвергаются стерилизации в автоклаве в течение 40 минут под давлением 1,5 атм. Зерновки овса и кукурузы насыпаются примерно до $^1/_4$ объема колбы и в последнюю подливается около двух объемов воды. Стерилизация производится в автоклаве 15—20 минут текучим паром и затем один час под давлением в 1,5 атм.

Посев лучше производить на свежеприготовленные среды, остуженные до комнатной температуры. После посева необходимо хорошо встряхнуть колбы, чтобы на всей питательной среде одновременно началось плодоношение. После посева колбы, в зависимости от того, как скоро нужно получить обильное плодоношение, выдерживаются при соответствующей температуре. При 18—24° для массового образования плодоношения требуется около полутора-двух месяцев. В колбах гриб может успешно развиваться, не теряя вирулентности в течение 8—10 месяцев. Это позволяет заблаговременно приступить к заготовке культуры.

В том случае, когда культуру требуется транспортировать куда-либо, можно поступить следующим образом: культура извлекается из колбы вместе с питательной средой и высушивается до воздушно-сухого состояния при обычной комнатной температуре или при температуре 24—26° (но не выше). Для этого требуется всего 3—4 суток, если расположить культуру тонким слоем. После такого подсушивания культура свободно может транспортироваться в небьющейся посуде.

Выводы

1. Подобран ряд дешевых питательных сред (ломтики моркови и картофеля, зерновки овса и кукурузы и др.), на которых успешно развивается паразит ржавчины Darluca filum.

2. Разработана простая и широко доступная методика массового накопления культуры гриба D. filum на питательных средах.

3. В условиях оранжерейного опыта показано, что гриб D. filum, выращенный на питательных средах, не теряет вирулентности и в состоянии повреждать до 98% пустул ржавчины (независимо от степени развития) при запоздалом нанесении на растения и почти целиком подавляет ржавчину в фазе мицелия при своевременном нанесении культуры паразита ржавчины на растения, зараженные ржавчиной.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт защиты растений
Ленинград

Получено 3. VIII. 1951 г.

ПРИСПОСОБЛЕНИЕ ЛАБОРАТОРНОГО МИКРОСКОПА ДЛЯ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

Н. М. Симонович и Л. Миронов

Широкое развитие люминесцентного анализа в нашей стране способствует все большему внедрению в исследовательскую практику чрезвычайно чувствительного метода анализа — люминесцентной микроскопии.

В люминесцентном микроскопе препарат, специально «окрашенный», наблюдается в свете собственной люминесценции.

При помощи люминесцентного микроскопа можно обнаружить новые детали препаратов, которые при обычной микроскопии не удается видеть из-за близости их показателя преломления к показателю преломления окружающей среды или из-за плохой окрашиваемости некоторых деталей препаратов.

Препараты при люминесцентной микроскопии представляются исключительно контрастными, ярко и разнообразно светящимися, различные детали люминесцируют различными тонами при окраске препарата даже одним флуорохромом, так как цвет и яркость люминесценции нередко зависят от химической структуры ткани и от характера ее связи с флуорохромом.

При люминесцентном микроанализе можно производить также и прижизненную окраску тканей и культур [4, 5, 6].

Многие из необходимых в медицине, биологии и сельском хозяйстве анализов можно с большим успехом осуществить посредством люминесцентной микроскопии. Но люминесцентный микроскоп фабричного производства ввиду своей сложности и дороговизны не всегда доступен многим лабораториям и даже некоторым кафедрам биологических и медицинских вузов.

В этих микроскопах применяются сложные системы осветителей, специальная аппаратура, нередко специальная кварцевая оптика, что сильно удорожает конструкцию, делает ее громоздкой.

Во многих зарубежных и некоторых отечественных руководствах по люминесцентной микроскопии утверждается, что все линзы конденсоров для возбуждающего света должны быть кварцевыми, а все зеркала и отражатели должны иметь алюминированную, а не посеребренную поверхность [2, 7].

Однако известно, что возбудителем фотолюминесценции большинства препаратов является часть ультрафиолетового света, легко проходящая через стеклянную оптику.

По инициативе сотрудников Института микробиологии Академии Наук СССР пропагандируется весьма простое и остроумное приспособление обычного микроскопа для люминесцентной микроскопии в видимом синем свете [1, 3, 5, 6].

Благодаря этому люминесцентная микроскопия становится исключительно доступной. Дело только за организацией внедрения в жизнь этих приспособлений.

Нами также разработано приспособление, которое отличается от предложенных ранее.

Это приспособление дает возможность исключительно легко, просто и дешево переделать обычный микроскоп в люминесцентный при использовании материалов, которые могут быть всегда под рукой.

Ввиду этого конструкция может быть реализована собственными силами и применена любой, даже небольшой сельской или участковой медицинской и сельскохозяйственной лабораторией при наличии обычного лабораторного микроскопа, что открывает перспективы широкого внедрения люминесцентного микроанализа в повседневную исследовательскую практику.

Конструкция является очень несложной, портативной, не боящейся переноски и перевозки, что часто бывает необходимо при работе научных экспедиций и изыскательных партий.

Нами используются линзы конденсоров и светофильтр из обычного стекла, что совсем не мешает работе.

Переделка микроскопа сводится к следующему: к обычному микроскопу вместо зеркала в вилку его (*5*) (рис. 1 и 2) вставляется дюралюминиевый держатель (*4*) с укрепленной на нем лампочкой ультрафиолетового света УФО на 26 и 25 вт (*1*), включающейся в городскую сеть

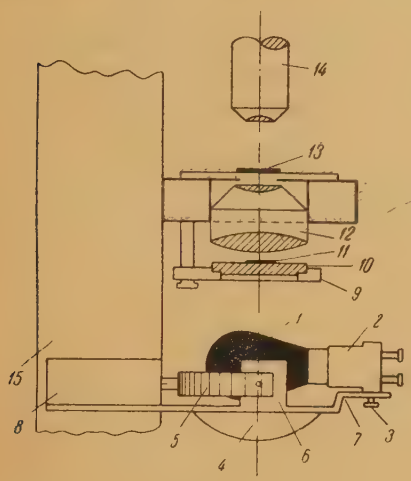


Рис. 1

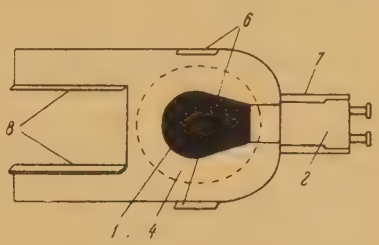


Рис. 2

120 в через трансформатор или реостат около 80 ом. Эти лампочки выпускаются нашей советской промышленностью.

Лампочка крепится при помощи обычного автомобильного патрона (*2*), привинченного к язычку держателя (*7*) винтом (*3*). Поверхность держателя за лампочкой вогнута.

Для устранения смещения осветителя по продольной линии оси у держателя имеются вертикальные щечки (*6*), плотно облегающие ножку микроскопа (*15*).

Лампочка излучает значительный участок невидимого ультрафиолетового спектра, немного видимого фиолетового, синего и несколько более значительную часть красного света.

Для отсеивания сильно мешающего при исследовании красного света на пути его перед конденсором (*12*) в светофильтровую кассету микроскопа (*9*) вкладывается светофильтр из обычного стекла (*10*) диаметром в стандартный светофильтр.

Для того чтобы ультрафиолетовый свет, мешающий исследователю, а также остатки синего и зеленого участков видимого спектра не прошли через оптику микроскопа и не попали в глаз, создается темнопольное освещение путем наклеивания в центре светофильтра круглого диска центральной бленды (*11*), вырезанной из станиоля. Подбор диаметра центральной бленды имеет очень важное значение для работы микроскопа и зависит от конструкции конденсора. Нами при работе с микроскопом системы «Прогресс» применяется бленда диаметром 9 мм.

Средний пучок лучей возбуждающего света (*а*) (рис. 3) задерживается центральной блендой (*11*), боковые же лучи (*в*), пройдя через конденсор (*12*), скрещиваются на препарате (*13*), заставляют его люминесцировать, а потом расходятся в стороны (*с*), не попадая в объектив микроскопа (*14*).

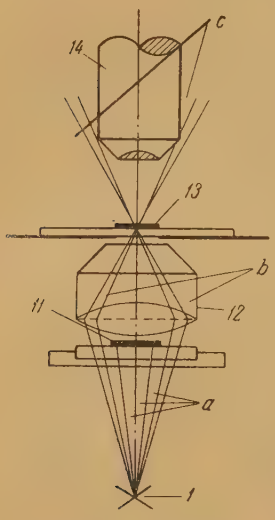


Рис. 3. Ход лучей в конденсоре

Картина люминесценции препарата хорошо просматривается в темном поле. Регулировка освещенности поля зрения производится поднятием и опусканием конденсора, если это возможно по конструкции взятого лабораторного микроскопа.

Центральная бленда избавляет от применения дополнительных светофильтров, либо удорожающих установку, либо скрадывающих часть цветов свечения препарата, как это наблюдается при применении скрещивающихся светофильтров [1].

Лампочка накаливания УФО, применяемая нами в качестве осветителя, не дает образования в воздухе рабочего помещения озона, вредного для организма, что обычно бывает при использовании в качестве осветителей ртутных ламп. К тому же она имеет ровное, спокойное свечение, чего нет при применении кварцевых ламп и дуговых осветителей.

Горьковский медицинский институт
им. С. М. Кирова

Получено 16. II. 1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Замков В. А. Простое приспособление для люминесцентной микроскопии. Микробиология, XVII, 400, 1948.
2. Киктенко В. С. и Шустова Л. Н. Люминесцентная микроскопия в микробиологии. Сб. научн. информ. отд. здравоохр. сов. военной администрации в Германии, № 1, 120, 1947.
3. Мейсель М. Н. Некоторые итоги и перспективы применения люминесцентной микроскопии в биологии. Изв. АН СССР, сер. физич., 13, 230, 1949.
4. Мейсель М. Н. Люминесцентно-микроскопический анализ функционального состояния живого вещества. Изв. АН СССР, сер. физич., 15, 788, 1951.
5. Мейсель М. Н. и Заварзина Н. Б. Флюоресцентно-микроскопические наблюдения над живыми клетками микроорганизмов. Микробиология, XVI, 394, 1947.
6. Мейсель М. Н., Кондратьева Т. М. и Помощникова Н. А. Функциональное состояние и реактивность структур клеточного протопласта. Журн. общей биологии, 12, 312, 1951.
7. Прингсхейм П. и Фогель М. Люминесценция жидких и твердых тел и ее практические применения. Гос. изд-во иностр. литературы, М., 1948.

К ВОПРОСУ О ПРИРОДЕ БАКТЕРИОФАГА *

В. А. Крестовникова, В. И. Журбина и Н. Б. Измайлова

Вопрос о природе бактериофага, несмотря на многочисленные попытки его выяснения, до сих пор остается еще не решенным. Этот вопрос в свое время явился предметом продолжительной дискуссии, которая вышла за пределы микробиологии, так как открытие феномена бактериофагии поставило на очередь вопрос о границе жизни, о мицелле как единице живого вещества.

Бактериофагу приписывается выдающаяся роль в изменчивости бактерий, им пользуются для экспериментального ее воспроизведения. В настоящее время бактериофаг служит удобной моделью и для изучения свойств вирусов.

Еще д'Эреллем было обращено внимание на бактериофагию, имеющую место в организме животного и человека при инфекционном процессе, и фаг был выдвинут как один из факторов иммунитета. Все это создало предпосылки к широкому изучению фага и использованию его для борьбы с заразными болезнями.

В отношении природы бактериофага высказано много теорий, которые можно разделить на две основные группы:

1) теории о бактериофаге как о живом начале;

2) теории о бактериофаге как о неживом веществе-ферменте.

В каждой из этих основных групп теоретических представлений бактериофаг в свою очередь рассматривается то как экзогенное по отношению к микробу начало — ультравирус, паразитирующий на микробе, то как фермент, вырабатываемый макроорганизмом в борьбе с проникающими в него микробами.

Большинство сторонников эндогенной по отношению к микробу природы бактериофага считают бактериофаг ферментом самой микробной клетки (Бордэ (Bordet [11]), Ермольева [2], Крисс [7], Клейн [8] и другие); лишь Гамалея [1], Сукнев [8], Жуков-Вережников [4, 5], Гедли (Hedley [13]), Бейль, (Beil [9, 10]) и другие объясняют это явление с позиций живой природы бактериофага, исходя из биологии самой микробной клетки.

Бактериофаг, по мнению Жукова-Вережникова, Сукнева, Гедли, является фильтрующейся формой микроба, его гонидиальной стадией, обладающей ферментом, благодаря которому она проникает в микробную клетку. Согласно мнению Гамалея и Бейля, бактериофаг является «обломком», фрагментом микробной клетки, способным к независимому от клетки существованию.

В настоящее время большинство исследователей под влиянием новых фактов и особенно данных, полученных при помощи электронного микроскопа, показавших корпускулярность бактериофага и его активное внедрение в микробную клетку, склоняются к тому, чтобы признать бактериофаг живым существом.

Если признавать бактериофаг живым, то его можно считать либо невидимой частицей самого микроба, либо ультравирусом, чуждым микробу,— других толкований быть не может.

* Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология» по проблеме неклеточных форм у микроорганизмов.

Вирусологи считают бактериофаг ультравирусом, так как его свойства полностью совпадают со свойствами вирусов. Однако вопрос и о природе ультравирусов, вследствие открытия в последние годы вирусов в виде кристаллического белка, также усложнился, так как появились высказывания и об эндогенном по отношению к организму происхождении ультравирусов. Так как бактериофаг обнаруживает все свойства вирусов, то и вопрос о его природе столь же сложен, как и вопрос о природе вирусов.

Нам представляется, что при решении вопроса о природе бактериофага возможно будет решить также вопрос и о связи ультравирусов и фильтрующихся форм микробов.

Все это и побудило нас экспериментально подойти к изучению природы бактериофага.

Возможным методом для решения этой задачи мы считали иммунологическое изучение бактериофага как антигена, тем более что это свойство фага уже доказано. Это представлялось заманчивым, так как применение химических и физических методов исследования природы фага до сих пор не внесло достаточной ясности в этот вопрос. Метод иммунологического изучения, являющийся специфическим и высоко чувствительным, позволяющим вскрыть тонкие различия в изучаемых объектах, не был в достаточной мере ранее использован при изучении фага.

Мы решили изучить состав антител в антифаговых сыворотках, возникающих в организме животного в ответ на введение бактериофага. Особенностью наших исследований было то, что мы изучали антитела к бактериофагу в антифаговой сыворотке не только к микробу, который подвергается лизису, как это делалось другими, но и по отношению к другим формам данного микроба, приближающихся возможно по своим свойствам к фильтрующимся формам данного вида. Мы рассчитывали найти у них общий антиген с бактериофагом.

В настоящее время независимость антител к бактериофагу от таковых лизируемого им микроба показана с полной очевидностью многими исследователями, главным образом в отношении кокковых фагов, но это совсем не изучалось в отношении других фагов и иных форм существования микроба, в частности, «микроформ» и фильтрующихся форм микробов.

При изучении антифагинов в антифаговых сыворотках было показано, что реакция нейтрализации бактериофага высоко специфична и осуществляется подобно реакции токсин-антитоксин при реакции нейтрализации.

В качестве первой модели для изучения мы избрали бактериофаг, активный в отношении протея X_{19}, тем более, что в продолжение нескольких лет мы изучали вопрос о связи протея X_{19} и риккетсий Провачека. Мы имели, помимо протея, его микроформу — культуру 597, поддерживаемую нами с 1942 г., а также свежую аналогичную культуру, выделенную из легких, зараженных риккетсиями мышей (микрокультура 56), а также риккетсии Провачека как в убитом, так и в живом состоянии.

Вторым объектом был стрептококковый бактериофаг и штаммы стрептококка скарлатинозного происхождения, авизуальная стадия скарлатинозного стрептококка, выделенная от скарлатинозных больных и любезно представленная нам Фалькович, а также гемокультуры СК, выделенные Клодницкой от скарлатинозных больных.

Третьим объектом явился бактериофаг суипестифер, культуры суипестифер, а также вирус чумы свиней и культуры суисептикус, часто выделяемый при септической форме чумы свиней.

Четвертым объектом были брюшнотифозные бактериофаги и соответствующие О и ВИ культуры.

Наконец, пятым объектом были избраны дизентерийный бактериофаг и типичные дизентерийные культуры, а также атипичные культуры, выделенные из крови больных дизентерией.

Методика

Следует остановиться кратко на методике работы.

Антифаговые сыворотки мы получили, иммунизируя кроликов каждым из фагов, действующих на соответствующие культуры в титрах 10^{-7}—10^{-8}.

Методика иммунизации состояла в шестикратном внутривенном введении каждого бактериофага в дозах 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 10,0 мл с интервалом в 6—7 дней и с последующим взятием сыворотки через 7—8—10 дней после последнего введения бактериофага. В некоторых случаях иммунизация продолжалась дольше и даже проводилась в два цикла.

Полученные сыворотки изучались в реакции нейтрализации соответствующего фага и в них определялся титр антифагинов.

Для постановки реакции нейтрализации мы пользовались жидкой средой, так как мы считали этот метод более объективным. Сыворотки для этого разводились физиологическим раствором поваренной соли. Бактериофаги разводились бульоном путем десятикратных разведений. Каждое разведение сыворотки смешивалось с каждым разведением фага в равных объемах.

После тщательного перемешивания смесь сыворотки с фагом выдерживалась 30 минут при комнатной температуре для протейного, стрептококкового, суипестифер и дизентерийного фагов и 3 часа при 37° для тифозного фага. Затем в каждую пробирку вносилось по одной капле молодой четырехчасовой бульонной культуры соответствующего микроба.

В опыт брались фаги в разведенном виде соответственно их силе, как правило, в трех разведениях. Это давало возможность видеть реакции в динамике в зависимости от доз. Следует отметить, что мы проводили опыты с минимальными количествами фага, приближающимися к предельному их титру.

Сыворотки разводились от 1 : 32 до 1 : 2048, также в зависимости от их нейтрализующей силы. Пробирки выдерживались в термостате следующие сроки: протейный фаг — два часа в термостате и ночь при комнатной температуре; стрептококковый и дизентерийный — ночь в термостате; суипестифер — 2 часа в термостате и ночь при комнатной температуре; тифозный — $3^1/_2$ часа в термостате и ночь в рефрижераторе.

Учет опытов производился на следующий день.

Задачей этих исследований было определить способность адсорбировать антифагины вегетативной формой микроорганизмов, а также другими формами (стадиями) их существования: микроформы, фильтрующиеся формы. Для выяснения этого вопроса адсорбция каждой сыворотки производилась по три-четыре раз суспензией живой агаровой культуры, или соответствующими микрокультурами, или субстратами, содержащими вирус или фильтрующиеся формы, путем выдерживания смеси каждый раз в термостате при 37° в течение двух часов (для риккетсий — ночь). После выдерживания в термостате смесь помещалась на ночь в рефрижератор, утром пробирки центрифугировались, жидкая часть отсасывалась и снова подвергалась адсорбции. После окончания адсорбции сыворотка фильтровалась через фильтр Зейтца.

Для установления результатов адсорбции производились одновременно опыты нейтрализации соответственного бактериофага адсорбированными так же, как и неадсорбированными сыворотками.

Каждый опыт сопровождался контролями: 1) сыворотка на стерильность; 2) взятые в опыт разведения фага на активность и 3) культуры на интенсивность роста.

Если при хороших контролях действия фага во взятых разведениях в опытных пробирках получался рост культуры, т. е. отсутствовал лизис, это свидетельствовало о том, что антифагины нейтрализуют фаг. Если же бактериофаг проявлял свою активность и роста культуры в опытных пробирках не было, т. е. имелся лизис, то такое явление рассматривалось как отсутствие антифагинов.

Таким образом, опыты нейтрализации бактериофага адсорбированными сыворотками давали возможность определять наличие общих антигенов у бактериофага и соответствующего микроорганизма, послужившего для адсорбции сыворотки.

Кроме того, мы изучали в антифаговых сыворотках и наличие антимикробных антител (агглютининов) не только к микробу, на котором пассировался данный бактериофаг, но также и к другим стадиям развития микроорганизма. Оказалось, что все антифаговые сыворотки содержат агглютинины в разных титрах не только к микробам, на которых они пассируются, но также и к микроорганизмам, которые, по нашему представлению, являются стадиями развития данного вида.

Эти данные в настоящей статье нами не приводятся.

Экспериментальные данные

В своем распоряжении мы имели бактериофаг протея OX_{19}, пассированный на штамме протея OX_{19}, культуру протея OX_{19}, микрокультуры этого протея и, наконец, три штамма риккетсий Провачека, как живые так и убитые (диагностикум).

Прежде всего была изучена степень активности сыворотки по отношению к протейному бактериофагу.

Оказалось, что титр антифаговой сыворотки равняется 1 : 512.

После этого была произведена адсорбция антител культурой протея. Оказалось, что протей не извлекает антител к бактериофагу, что подтвердило установленное положение об обособленности в антигенном отношении бактериофага от микроба, которого он лизирует.

Равным образом не истощила антифаговую сыворотку и старая лабораторная культура 597 (микроформа протея). В противоположность этому истощение порции сыворотки, предварительно истощенной протеем X_{19}, свежевыделенной микрокультурой протея 56, также и риккетсиями, вызвало полное истощение в антифаговой сыворотке антител, нейтрализующих бактериофаг.

Таблица 1

Адсорбция культурами антител к бактериофагу протея X_{19} из антифаговой сыворотки протея X_{19}

Антифаговая сыворотка	Адсорбция	Бактериофаг	Результат опыта нейтрализации бактериофага
Протея X_{19}	—	Протея X_{19}	+
	Культура протея X_{19}		±
	Микрокультура № 56		—
	Риккетсии		±
	Провачека		—
Стрептококковая *	Риккетсии	Стрептококковый	+
	Провачека		

* Контрольный опыт специфичности адсорбции

Условные обозначения к табл. 1—6: + нейтрализация бактериофага; — отсутствие нейтрализации бактериофага; ± частичная нейтрализация.

Эти неожиданные данные заставили нас повторять много раз опыт, провести много раз адсорбцию риккетсиями антител по указанной выше схеме, испытать адсорбцию риккетсиями как в убитом, так и в живом состоянии. Мы получали неизменно однозначные результаты, свидетельствующие о связывании риккетсиями антител к бактериофагу протея X_{19}. Мы провели опыты со штаммами легочных риккетсий и со штаммами риккетсий, пассируемых во вшах.

Следует заметить, что тот же результат был получен и при адсорбции антифаговой сыворотки риккетсиями и без предварительного извлечения из сыворотки антител к протею X_{19}.

Таким образом, истощение риккетсиями антител к протейному OX_{19} бактериофагу является закономерным явлением, говорящим о том, что у риккетсий и бактериофага протея X_{19} имеется общий антиген. Этот антиген при иммунизации кроликов вызывает появление антител, нейтрализующих литическое действие бактериофага.

Аналогичные данные мы получили при адсорбции антифаговой сыворотки микрокультурой 56, свежевыделенной из легких мышей, зараженных риккетсиями.

Как видно из табл. 1, адсорбция антител микрокультурой 56 полностью, как и риккетсии, связала антитела, нейтрализующие бактериофаг. Следует заметить, что эта культура, как и культура 597 при дальнейших

пересевах на питательных средах потеряла способность извлекать антифагины.

Чтобы убедиться в специфичности адсорбции риккетсиями антифагинов к фагу протея X_{19}, мы поставили контрольные опыты адсорбции риккетсиями антител к стрептококковому бактериофагу. Оказалось, что риккетсии не были способны извлекать антифагины из противострептококковой антифаговой сыворотки.

Таким образом, способность риккетсий извлекать антитела к протейному бактериофагу является специфической.

Установленные нами данные важны в двух отношениях. Одним из доказательств, приводимых в пользу живой вирусной природы бактериофага, является то, что он имеет самостоятельный антиген. Этот антиген у бактериофага протея X_{19}, как показали наши опыты, является общим с риккетсиями, микробная природа которых в настоящее время не вызывает сомнений. Он имеет общий антиген и с микрокультурой протея 56. Кроме того, эти опыты говорят о том, что в антигенную структуру риккетсий, помимо уже известных антигенов, входит еще впервые обнаруженный нами третий антиген, общий с бактериофагом протея X_{19}. Едва ли может быть случайным наличие у риккетсий двух протейных антигенов (X фактора и антигена, общего с X_{19} протейным бактериофагом).

Нам представляется, что это обстоятельство может служить еще одним новым аргументом в дополнение к доказательствам, приводимым в наших прежних работах о связи риккетсий и протея X_{19}.

Эти наши данные также устанавливают микробную природу бактериофага протея X_{19}.

Следующим объектом наших исследований явился стрептококковый бактериофаг. Так как в нашем Институте за последние годы были развернуты большие работы по этиологии скарлатины, мы имели в своем распоряжении стрептококковый бактериофаг, пассированный на штаммах стрептококка скарлатинозного происхождения. Мы испытывали также штаммы СК Клодницкой, выделенные ею из крови скарлатинозных больных; эти штаммы мы склонны рассматривать как микроформу стрептококка. Кроме того, в наше распоряжение любезно была предоставлена Фалькович и Воронковой авизуальная стадия скарлатинозного стрептококка, полученная ими при пассажах через животных, смывов из глотки скарлатинозных больных (ОВ) фильтратов стрептококка, выделенного от скарлатинозных больных (ДВ).

С этими объектами мы провели аналогичные, уже описанные опыты адсорбции антифагинов к стрептококковому бактериофагу из противострептококковой антифаговой сыворотки.

При этом мы преследовали две задачи: 1) выяснить, самостоятелен ли антиген стрептококкового бактериофага или на другом объекте можно найти микробный антиген, который способен извлекать антифагины к бактериофагу, и 2) найти связь между изучаемой авизуальной стадией стрептококка, культурой СК и стрептококком.

Результаты этих опытов представлены в табл. 2.

Титр антифагинов к стрептококковому бактериофагу был равен 1 : 272.

На табл. 2 показано, что стрептококк, как и протей, не извлекает антифагины, что подтверждает самостоятельность антигена у стрептококкового бактериофага.

Далее видно, что в противоположность этому культура СК № 13 полностью извлекает антифагины к стрептококковому бактериофагу, а другая культура СК № 12 способна лишь частично извлекать антифагины и в меньшей степени, чем культура № 13.

Таким образом, у культур СК имеется антиген общий со стрептококковым бактериофагом.

Таблица 2

Адсорбция культурами антител к стрептококковому бактериофагу из стрептококковой антифаговой сыворотки

Антифаговая сыворотка	Адсорбция	Бактериофаг	Результат опыта нейтрализации бактериофага
Скарлатинозного стрептококка	—	Скарлатинозный стрептококк	+
	Стрептококк		+
	Микрококк № 13		—
	Микрококк № 12		±
	Фильтрат ОВ		—
	„ ДВ		±
Протея X_{19} *	Микрококк № 12	Протея X_{19}	+

* Контрольный опыт специфичности адсорбции.
Условные обозначения см. табл. 1

Из таблицы явствует, что адсорбция антифагинов фильтрующимся началом (авизуальная стадия скарлатинозного стрептококка, полученная из зева скарлатинных больных (ОВ)) извлекает антифагины из антифаговой стрептококковой сыворотки, причем штамм ДВ, полученный из культуры стрептококка, является в этом отношении более слабым.

В этих опытах вновь выявилось, что фильтрующаяся стадия скарлатинозного стрептококка штамма ОВ, как и культуры СК, имеют антиген, извлекающий антифагины из антифаговой стрептококковой сыворотки.

Представлялось важным показать, что указанная адсорбция является специфической.

Контрольный опыт адсорбции антифагинов к протейному бактериофагу X_{19} культурой микрококка СК показал, что адсорбции антител в антифаговой протейной сыворотке не произошло.

Таким образом, и на примере стрептококкового бактериофага мы видим, что стрептококк не способен адсорбировать антифагины к стрептококковому бактериофагу, т. е. не имеет общего с ним антигена, а микрококк СК и авизуальная стадия скарлатинозного стрептококка обладают этим антигеном.

Этими опытами вновь устанавливается, во-первых, тесная связь стрептококкового бактериофага с микроорганизмом; во-вторых, авизуальная стадия стрептококка Фалькович и микрококк СК Клодницкой имеют общие антигены, т. е. связаны между собой родством.

Третьим объектом нашего изучения был бактериофаг суипестифер и соответствующая ему антисыворотка, вирус чумы свиней и частые спутники этого заболевания культуры суипестифер и суисептикус.

Мы решили исследовать интересующие нас вопросы еще на одной модели, где связь вируса и «спутников» хорошо выражена.

В своем распоряжении мы имели бактериофаг, активный в отношении суипестифер [1], два штамма суипестифер, два штамма суисептикус, а также вирус чумы свиней, представляющий собой дефибрированную кровь свиньи, больной чумой.

Как и в предыдущих работах, мы получили специфическую к бакте-

[1] Любезно предоставлен нам проф. С. Н. Муромцевым.

риофагу сыворотку суипестифер, иммунизируя кроликов бактериофагом суипестифер с титром по Аппельману 10^{-8}.

Для выяснения степени близости этих микробов мы произвели реакцию агглютинации изучаемых микробов как в прямых, так и в перекрестных опытах со специфическими к ним сыворотками.

Оказалось, что сыворотка суипестифер агглютинирует только культуру суипестифер, в то время как сыворотка суисептикус агглютинирует культуру суисептикус в разведении 1 : 160 и 1 : 320; она также агглютинирует и культуру суипестифер в титре 1 : 80, т. е. помимо собственного антигена эта культура имеет еще и антиген общий с суипестифер.

Для выяснения самостоятельности этих антигенов были поставлены опыты адсорбции агглютинирующей сыворотки суисептикус культурами суипестифер. Оказалось, что после адсорбции культурой суисептикус были полностью извлечены антитела к суисептикус, в то время как антитела к суипестифер сохранились. И обратно, после адсорбции сыворотки суисептикус культурой суипестифер агглютинины к суипестифер были извлечены, а к суипестикус — остались. Из этого опыта можно заключить, что суисептикус и суипестифер имеют общие антигены и что эти антитела самостоятельны.

На основании этого изучения мы не могли отбросить мысли, что культуры суипестифер и суисептикус связаны между собой как различные стадии одного и того же микробного вида.

После изучения агглютининов в агглютинирующих сыворотках мы изучили антитела к бактериофагу в антифаговой сыворотке как до, так и после адсорбции их указанными культурами.

Таблица 3

Адсорбция культурами антител к бактериофагу суипестифер из антифаговой сыворотки суипестифер

Антифаговая сыворотка	Адсорбция культурой	Бактериофаг	Результат опыта нейтрализации бактериофага
Суипестифер	—	Суипестифер	+
	Суипестифер		—
	Суисептикус		+
Протея * X_{19}	Суипестифер	Протея X_{19}	+

* Контрольный опыт специфичности адсорбции.
Условные обозначения см. табл. 1

На табл. 3 представлены результаты этих опытов.

Как видно из таблицы, антифаговая сыворотка суипестифер до адсорбции нейтрализовала антитела к бактериофагу в титре 1 : 256, после адсорбции культурой суиспестифер она полностью потеряла это свойство. В противоположность этому сыворотка, адсорбированная суисептикус, сохранила антифагины.

Чтобы убедиться, что адсорбция антифагинов суипестифер специфична, мы произвели адсорбцию культурой суипестифер антифагинов из антипротейной антифаговой сыворотки.

На таблице далее показано, что суипестифер оказался неспособным извлекать антитела из протейной антифаговой сыворотки.

Таким образом, мы вправе заключить, что адсорбция антифагинов суипестифер, вызываемая суипестифер, является специфической.

Получив такие неожиданные результаты, как бы противоречащие предыдущим нашим опытам, говорящим, что микроб, лизируемый бактериофагом, не извлекает антител к бактериофагу, мы прежде всего могли думать о существовании в культурах суипестифер спонтанного бактериофага, который мог извлекать в наших опытах антифагины. Однако прямое определение бактериофага, произведенное в 10 пассажах, как на жидких, так и на твердых средах, не подтвердило его присутствия в культурах. Если и допустить наличие бактериофага в культурах, то он должен был находиться там в таких ничтожных количествах, которые не могли бы обусловить полное извлечение антител из сыворотки.

Приведя все указанные проверочные исследования, мы должны заключить, что сама культура суипестифер обладает антигеном, общим с бактериофагом суипестифер, что и обусловило специфическое связывание антител к бактериофагу.

Таким образом, в этом случае, в противоположность двум предыдущим, когда протей и стрептококк оказались неспособными извлекать антитела к соответствующим бактериофагам, мы имеем впервые обнаруженный нами пример того, что бактериофаг и лизируемый им микроб могут иметь общий антиген. Эти опыты прямо показывают, что бактериофаг тесно связан с микробом общностью антигена.

В качестве вируса мы имели дефибринированную кровь, взятую от свиньи, больной чумой. Этот вирус был получен из Кашинцевской биофабрики.

Всего было поставлено девять опытов с тремя штаммами вируса. Среди этих опытов мы имели связывание антител к фагу только в двух случаях с вирусом от 4. VIII. 1949 г., сер. 28, все остальные опыты, как и опыт, повторенный через некоторое время с тем же вирусом, дали отрицательные результаты.

Следует заметить, что, благодаря вязкости дефибринированной и гемолизированной крови, содержащей вирус, и относительно слабому титру антифагинов в экспериментальной сыворотке, нельзя было поставить опыт так, чтобы парализовать влияние коллоидов на ход реакции нейтрализации бактериофаговых корпускул. Кроме того, могло иметь значение и малое содержание вируса, достаточное для заражения, но не достаточное для извлечения противотел.

Таким образом, вопрос о способности вируса чумы свиней нейтрализовать антифагины остался еще не решенным окончательно и требует дальнейшего выяснения. Однако мы все же не можем пройти мимо двух опытов, в которых была показана способность вируса извлекать антифагины.

Что касается культуры суисептикус, то она оказалась лишенной общего антигена с бактериофагом суипестифер, в противоположность нашему предположению. Это не позволяет отнести его к стадии развития изучаемого возбудителя, и следует предположить, что он является вариантом, отщепившимся от суипестифер, и самостоятельным микробом, осложняющим заболевание чумой свиней.

Подытоживая наши наблюдения, изложенные в этом разделе работы, мы еще раз убеждаемся в том, что представление о бактериофаге как об особом ультравирусе, устанавливаемом только на основании обособленности его антигена от микроба, лишено основания. Следует поэтому найти другое рациональное объяснение его природы.

Новый факт обнаружения фагового антигена в микробе, лизируемом данным фагом, требовал дальнейших исследований для выяснения вопроса, является ли этот случай исключением или имеются и другие подобные примеры.

Для этих целей мы обратились к изучению брюшнотифозного бактериофага и соответствующей антисыворотки, тем более, что это изучение мы могли провести более тонко, имея Ви и О фаги, а также серологические типовые фаги и сыворотки.

Это изучение, кроме того, могло бы вооружить нас знанием антигенной структуры брюшнотифозного бактериофага.

В своем распоряжении мы имели Ви и О бактериофаги и соответствующие им антисыворотки [1].

Прежде чем описать результаты, которые нами получены в этих опытах, необходимо кратко остановиться на свойствах указанных бактериофагов и сывороток, так как это даст возможность понять специфические взаимоотношения, которые существуют между ними.

Как известно, имеются Ви бактериофаги, которые лизируют тифозные штаммы, содержащие Ви антиген. В противоположность этому существуют О бактериофаги, лизирующие тифозные штаммы, лишенные Ви антигена, а также лизирующие штаммы других сальмонелл, имеющих с брюшнотифозным микробом общий соматический антиген. Ви бактериофаги имеют несколько серологических типов, из которых при помощи второго серологического типа в настоящее время принято устанавливать типы брюшнотифозных штаммов. К каждому из Ви типовых бактериофагов можно получить специфические сыворотки, способные нейтрализовать только гомологический им тип фага.

Мы имели культуры T_1, T_2 и T_A — штаммы, на которых пассируются фаги. Бактериофаг $Ви_1$ пассируется на культуре T_1, фаг $Ви_2$ и $Ви_3$ — на культуре T_A.

В наших опытах мы пользовались той же методикой, какую применяли и с первыми тремя объектами.

Таблица 4

Адсорбция культурами антител к О и Ви брюшнотифозным бактериофагам из О и Ви брюшнотифозных антифаговых сывороток

Антифаговые сыворотки	Адсорбция Культурами	Бактериофаг	Результат опыта нейтрализации бактериофага
Брюшнотифозная Ви сыворотка	—	Брюшнотифозный Ви бактериофаг	+
	Ви T_A		—
	О (901)		+
Брюшнотифозная О сыворотка	—	Брюшнотифозный О бактериофаг	+
	О (901)		—
	Ви T_A		±

Условные обозначения см. табл. 1.

В табл. 4 представлены данные о способности сывороток нейтрализовать соответствующие бактериофаги.

Следует заметить, что эти сыворотки имеют соответственно почти один и тот же титр антифагинов 1 : 4096—1 : 8192.

Была произведена адсорбция антифагинов из этих сывороток как гомологичными, так и перекрестно разноименными О и Ви штаммами, с последующим испытанием их на нейтрализующие бактериофаг свойства.

Оказалось, что Ви штаммы извлекают полностью антифагины из Ви сывороток и частично из О сыворотки, в противоположность этому О штаммы полностью извлекают антифагины только из О сыворотки и совсем не был способен извлекать антифагины из Ви сыворотки.

Эти результаты находятся в полном согласии с результатами опытов с суипестифер, отличаясь только тем, что там два штамма оказались одинаково способными адсорбировать антифагины. В данном случае два тифозных Ви и О штамма вели себя различно.

Аналогично этому мы провели изучение типовых Ви бактериофагов и специфических к ним антисывороток.

Опыты по изучению специфичности литического действия тифозных Ви бактериофагов на Ви культуры показали, что, несмотря на различие штаммов, на которых они пассируются (T_1 и T_A), первый и третий Ви фаги хорошо лизируют все культуры; фаг $Ви_2$, хорошо лизируя культуру T_A, значительно слабее растворяет культуры T_1 и T_2.

Далее изучение специфичности действия типовых сывороток на типовые фаги выявило, что сыворотки 1 и 3 обладают типовой специфичностью, сыворотка второго типа, хорошо нейтрализуя фаг второго типа, обладает некоторой способностью нейтрализовать и фаг первого типа.

Для изучения антигенной структуры бактериофага представляло интерес проверить наши наблюдения о способности штаммов адсорбировать антифагины из специфических типовых антифаговых сывороток.

Таблица 5

Адсорбции Ви брюшнотифозными культурами антител к типоспецифическим бактериофагам из типо-специфических антифаговых сывороток

Антифаговые сыворотки	Адсорбция Ви культурами	Бактериофаг	Результат опытов нейтрализации бактериофагов
$Ви_I$	— T_1 T_2 T_A	$Ви_I$	+ — + —
$Ви_{II}$	— T_1 T_2 T_A	$Ви_{II}$	+ — — —
$Ви_{III}$	— T_1 T_2 T_A	$Ви_{III}$	+ — — —

На табл. 5 представлены полученные результаты. Оказалось, что штаммы T_1 и T_A извлекли антифагины из всех типов сывороток, и лишь штамм T_2, извлекая антифагины из второй и третьей сывороток, оказался неспособным извлекать антифагины из сыворотки первого типа. Таким образом, этот штамм по своему антигенному составу несколько отличается от других Ви штаммов.

Сопоставляя все приведенные опыты, мы можем сказать, что брюшнотифозные штаммы обладают общим с гомологическим бактериофагом

антигеном. Если в опыт взять случайные фаги и антисыворотки, может получиться пестрый результат, что в прежних опытах других исследователей, конечно, не было учтено. Наши опыты более тонко вскрывают эти взаимоотношения и позволяют утверждать наличие общего антигена у тифозных культур и бактериофагов, которые способны извлечь антитела к бактериофагу, несмотря на фаготиповые их различия.

Другой интересной, обнаруженной нами деталью является сложность антигенной структуры ничтожно малой частицы брюшнотифозного фага, в состав которой входит общий видовой антиген и ярко выраженный специфический типовой антиген.

Возможно, что сходные результаты опытов с брюшнотифозным и суипестифер микробами получились потому, что эти микроорганизмы принадлежат к одному роду (сальмонелла), которому присуще данное свойство.

Следующим объектом нашего изучения был дизентерийный бактериофаг. Для проведения работы нами был приготовлен бактериофаг к культуре дизентерии Флекснер W, выделенный из одного стерильного пятна производственного дизентерийного поливалентного бактериофага. После семи пассажей на культуре дизентерии Флекснер W титр его оказался равным 10^{-9}. Для получения антифаговой сыворотки, как и в предыдущих опытах, бактериофаг вводился внутривенно кроликам.

Полученная сыворотка испытана на наличие антифагинов к соответствующему бактериофагу.

Титр антифагинов оказался равным 1 : 256, 1 : 512 и 1 : 1024 в зависимости от дозы фага.

Определение антифагинов, как и в предыдущих опытах, производилось в жидкой среде при разведении бактериофага от 10^{-5} до 10^{-8}; в опыт бралась четырехчасовая бульонная культура; контакт сыворотки с бактериофагом длился в течение 30 минут при температуре 37°.

По аналогии с предыдущими опытами была произведена трехкратная адсорбция антифаговой сыворотки по принятой нами методике суспензией живой агаровой культуры суточного возраста двух штаммов дизентерии Флекснер W № 756 и 52.

Опыт адсорбции антифаговой дизентерийной сыворотки дизентерийными культурами имел целью определить, имеются ли общие антигены у дизентерийного бактериофага и дизентерийных культур в их обычной вегетативной форме (табл. 6).

Оказалось, что после адсорбции антифаговой дизентерийной сыворотки дизентерийными культурами в вегетативной форме антифагины сохраняются в прежнем титре.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что бактериофаг дизентерии Флекснер W не содержит общего антигена с одноименной культурой в ее вегетативной форме.

Далее мы произвели адсорбцию антифаговой дизентерийной сыворотки двумя культурами С и А, полученными нами из крови дизентерийных больных при длительном выращивании посевов сгустков крови на желчи и на среде, приготовленной на дестиллированной воде с 0,1% агара. Эти культуры представляют собой мелкие палочки, не окрашивающиеся по Граму, неподвижные, не сбраживающие углеводов, не образующие индола и слабо образующие сероводород, не лизирующиеся поливалентным дизентерийным бактериофагом. Эти культуры агглютинируются сыворотками дизентерийных больных и не агглютинируются специфическими дизентерийными сыворотками; однако сыворотки, полученные при иммунизации кроликов этими культурами, дают реакцию агглютинации с дизентерийными культурами в больших титрах.

Адсорбция антифаговой дизентерийной сыворотки этими культурами, которые мы называем «атипичными дизентерийными гемокультурами», была произведена троекратно по принятой нами методике.

После троекратной адсорбции титр антифагинов в сыворотке снизился в восемь раз при адсорбции ее культурой С и в два раза при адсорбции культурой А.

Таблица 6

Адсорбция культурами антител к дизентерийному бактериофагу из дизентерийной антифаговой сыворотки

Антифаговая сыворотка	Адсорбция	Бактериофаг	Результат опыта нейтрализации бактериофага
Дизентерии Флекснер W	—	Флекенер W	+
	Культура дизентерии Флекснер W 765		+
	Культура дизентерии Флекснер N 52		+
	Атипичная дизентерийная гемокультура С		—
	Атипичная дизентерийная гемокультура А		—
Протея X_{19} *	Атипичная дизентерийная гемокультура С	Протея X_{19}	+
	Атипичная дизентерийная гемокультура А		+

* Контрольный опыт специфичности адсорбции.

Оказалось, что «атипичные дизентерийные гемокультуры» обладают общим антигеном с дизентерийным бактериофагом Флекснера W.

Для проверки специфичности адсорбции «атипичными дизентерийными гемокультурами» антифагинов из дизентерийной антифаговой сыворотки был поставлен контрольный опыт. Антифаговая протейная X_{19} сыворотка также была троекратно адсорбирована «атипичными дизентерийными гемокультурами» С и А и затем испытана на способность адсорбировать антифагины к бактериофагу протея X_{19}. Оказалось, что титр антифагинов остался прежним, антифагины в отношении бактериофага X протея не были извлечены.

Данные контрольного опыта показывают, что адсорбция антифагинов из антифаговой дизентерийной сыворотки атипичными дизентерийными гемокультурами является специфической.

Полученные данные свидетельствуют также о наличии общего антигена у дизентерийного бактериофага Флекснер W и у описанных выше атипичных дизентерийных гемокультур. Следовательно, изучение антител в антифаговой дизентерийной сыворотке показало отсутствие общего антигена у дизентерийного бактериофага и обычной вегетативной формы дизентерийного микроба и наличие такового у дизентерийного бактериофага и атипичных дизентерийных гемокультур.

Данные, полученные нами с дизентерийным бактериофагом, подтверждают установленные нами на других объектах выводы о наличии общих антигенов у бактериофагов и микроорганизмов, которые могут рассматриваться как различные формы существования возбудителя или стадии его развития.

Длительное изучение иммунологическими методами бактериофагов и микробов при помощи антифаговых сывороток позволяет придти к заключению, что представление о бактериофаге как о живом, постороннем для лизируемого микроба вирусе, устанавливаемое только на основании наличия самостоятельного специфического для бактериофага антигена,

опровергается нашими исследованиями. Одни микробы не имеют общего с бактериофагом антигена, но этот антиген можно обнаружить у микроорганизмов, рассматриваемых нами как их переходные формы. В других же случаях этот общий антиген с бактериофагом имеется и у вегетативной формы микроба, которая одновременно с этим лизируется фагом.

Иммунологическое изучение антифаговых сывороток методом адсорбции устанавливает это с большой очевидностью.

Остается неясным, почему одни микробы имеют общий антиген с бактериофагом, а другие лишены его. Предположение о наличии в первом случае бактериофага у микроба нами экспериментально отвергнуто. Установив связь бактериофага с микробом, мы приходим к выводу, что бактериофаг либо является составной частью микробной клетки, как это считают все сторонники неживой природы фага, либо, если признать его живым,— стадией развития микроба или гонидиальной его формой.

Вопрос о живой или неживой природе бактериофага проведенными нами опытами не может быть решен, поскольку, как известно, ферменты также обладают антигенными свойствами.

Если обратиться к тому, что стало известно о бактериофаге, особенно за последние годы (данные электронной микроскопии), то приходится признать весьма вероятным, что бактериофаг представляет собой мельчайшие частицы живого вещества, на которые микробная клетка распадается при ее созревании. Однако для доказательства этого положения требуются дальнейшие работы.

На основании проведенного нами иммунологическими приемами изучения вопроса о наличии общего антигена у фага и микробов на пяти различных объектах мы можем сделать следующие общие выводы.

Выводы

1. При помощи адсорбции микробами удается извлечь из антифаговой сыворотки антитела, специфически нейтрализующие соответствующий бактериофаг, чем доказывается антигенная общность между микробом и соответствующим бактериофагом.

2. В тех случаях, когда микроорганизм, лизируемый бактериофагом, не извлекает антител к данному бактериофагу, можно найти переходные формы (стадии развития) этого микроорганизма, которые обладают этим свойством, чем в свою очередь доказывается принадлежность этих микроорганизмов к одному виду.

3. Согласно нашим исследованиям, протей X_{19} и стрептококк, а также микроб дизентерии Флекснер W не обладают способностью извлекать антифагины к соответствующим бактериофагам, в противоположность им культура суипестифер и большинство Ви и О штаммов брюшнотифозного микроба обладают этой способностью, что свидетельствует о наличии у них общих с бактериофагом антигенов.

4. Поскольку связывание антифагинов является специфической реакцией, этот метод позволяет устанавливать родовую связь между вирусами и микробами.

5. Иммунологическое изучение специфических типовых бактериофагов и специфических к ним антифаговых сывороток путем адсорбции антител может быть методом для изучения антигенной структуры микробов.

6. Все указанные факты опровергают основной и по существу единственный аргумент в пользу теории о бактериофаге как об экзогенном вирусе, паразитирующем на микробах, и говорят в пользу эндогенного по отношению микроба происхождения бактериофага.

Институт микробиологии,
эпидемиологии и инфекционных болезней
им. Мечникова
Москва

Получено 15. V. 1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамалея Н. Ф. О природе бактериофага. Журнал микробиологии, патологии и инфекционных болезней, III, 1, 1926.
2. Ермольева З. В., Буяновская И. С. и Северин В. А. К вопросу о природе бактериофага. Тр. 2-го съезда бактериологов, журн. микроб. эпид. и иммуноб., 9, стр. 82, 1932.
3. Ермольева З. В. и Беляева С. И. До питання про природу бактеріофага. Сб. Мінлівість мікробів и бактеріофагія, стр. 285. АН УССР, Київ, 1939.
4. Жуков-Вережников Н. Н. Значение феномена Д'Эрелля для вівчення біологіи бактерий. Сб. Мінлівість мікробів и бактеріофагія. стр. 323, АН УССР, Київ, 1939.
5. Жуков-Вережников Н. Н. О сущности и значении бактериофагии. Журн. микроб. эпид. и иммуноб., 2, 28, 1947.
6. Клейн Б. В. Теория бактериального лизиса. Микробиология, XII, вып. 2, 1943.
7. Крисс А. Е. Энзимная природа бактериофага. Усп. соврем. биол., № 3, стр. 273, 1944.
8. Сукнев В. В. Суть феномена Д'Эрелля в світі выявлення авізуальных форм мікробів методом сімбіозу. Сб. Мінлівість мікробів и бактеріофагія. стр. 311, АН УССР.
9. Beil O. Das Bakteriophagen Virus von d'Herelle. W. kl. Wochenschr. 237, 1921.
10. Beil O. Versuche über die Vielheit von Bakteriophagen. Z. Immun. Orig., 38, 57, 1923/24.
11. Bordet et Ciuca. Le bacteriophage de d'Herelle, sa production et son interpretation. C. R. Soc. Biol., 83, 1296, 1920.
12. D'Herelle F. Le bacteriophage et son comportement. Masson et C-ie éditeurs, 1926.
13. Hedley P., Twort d'Herelle phenomenon, critical review and presentation of new conception (Hemogamic theorie) of bacteriophage action. J. Inf. Dis., 42, 263, 1928.

УГЛЕКИСЛОТА В ОБМЕНЕ ВЕЩЕСТВ ГЕТЕРОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

(Обзор)

В. Н. Шапошников

Мы привыкли считать, что углекислота при развитии гетеротрофных организмов является отходом жизненных процессов. Однако уже в 1908 г. Новак (Nowak) отметил, что паразитические микроорганизмы, развиваясь в тканях человека, находятся в условиях пониженного содержания кислорода и повышенного содержания углекислоты. Это послужило основанием для попыток культивирования менингококков и гонококков в замкнутом пространстве (под колоколом), совместно с культурой Bac. subtilis, которая является и потребителем кислорода и продуцентом углекислоты. При этом во многих случаях наблюдалось хорошее развитие гонококков и менингококков. Это заставило ряд авторов подробнее заняться вопросом об углекислоте и рассмотреть ее участие в обмене с разных позиций.

Лебедев опубликовал в 1921 г. теоретические выводы из своей утерянной за годы первой мировой войны экспериментальной работы, касающейся благоприятного влияния CO_2 на развитие Aspergillus niger. Он отметил при этом, что CO_2 может быть заменена соединениями, содержащими карбонильную группу, или, добавим в соответствии с приводимыми ниже данными, соединениями, которые в результате биохимической активности данного микроорганизма могут приобрести эту группу (щавелево-уксусная кислота и пр.).

Более детальные исследования по этому вопросу относятся уже к 1935 г. и принадлежат Gladstone, Fildes и Richardson.

Чтобы избежать подсыхания субстрата, они проводили опыты с жидкими средами, которые аэрировались воздухом, предварительно лишенным CO_2. Работа проведена с Bact. coli, Bact. typhosum и Staphylococcus aureus. При этом оказалось, что заражение бедных питательными веществами субстратов небольшими количествами культуры в отсутствие CO_2 на протяжении пяти дней не приводило к сколько-нибудь заметному развитию. В богатых питательными веществами субстратах и при обильном засеве не удавалось полностью устранить развитие. Но во всяком случае оно сильно замедлялось.

Хес (Hes) (1938), повторяя эти опыты с различными бактериями, грибами и дрожжами, отмечает, «что в отсутствие CO_2 подавляется всякое развитие». Поэтому не без основания Rokwell (1923) указывал, что практикуемое микробиологами для создания анаэробных условий поглощение O_2 щелочным пирогаллолом может оказывать отрицательное влияние вследствие одновременного поглощения углекислоты.

Хес ставил опыты с жидкими средами, которые заражались небольшим количеством инокулята. Сосуд, в который вводилась пробирка с концентрированной щелочью, после заражения субстрата помещался на качалку для быстрого поглощения CO_2 энергичным размешиванием. Автор также подчеркивает необходимость применять для культуры не слишком богатые среды.

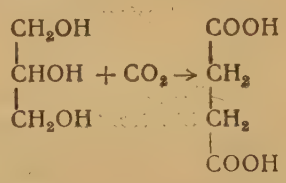
Обсуждая возможные объяснения благоприятного влияния CO_2 на развитие, Хес выдвигает следующие гипотезы.

1. CO_2 может являться звеном в цепи синтетических процессов, как у автотрофных организмов, и служить источником углерода.

2. CO_2 может оказывать влияние в качестве кислоты на pH среды или на внутриклеточное pH.

К этому времени появились уже некоторые данные о том, что углекислота при развитии микроорганизмов может являться не только отходом жизнедеятельности, но может вовлекаться в обмен веществ.

В 1936 г. появляется работа Wood и Werkman об образовании пропионовокислыми бактериями янтарной кислоты при сбраживании глицерина в присутствии карбонатов:



В 1936 г. Woods сообщает о способности Bact. coli восстанавливать CO_2 в муравьиную кислоту:

Eldsen (1938) показал, что суспензия клеток Bact. coli в присутствии углекислоты в значительном количестве образует из пировиноградной кислоты янтарную.

Учитывая эти данные, Хес высказывает предположение о том, что поскольку в этих случаях имеет место потребление углекислоты, то последняя, весьма вероятно, проходит этап муравьиной кислоты или формальдегида, и пытается это свое предположение проверить экспериментально. Для этого он в свои культуры вместо углекислоты добавляет в различных концентрациях соли муравьиной кислоты или формальдегид. Однако и в этих условиях развитие без углекислоты не удавалось; вследствие этого он заключает, что эти вещества не могут заменять углекислоту.

Я позволю себе отметить, однако, что этот метод весьма характерен для механистического подхода к толкованию процессов, который свойствен ряду авторов.

Вполне очевидно, что если определенный процесс проходит ряд этапов, то каждый из этих этапов в свою очередь связан со строго определенными физико-химическими условиями, определяемыми не чем иным, как именно образованием данного продукта из его предшественников.

Без знания и без учета этих условий и без воспроизведения их в опытах трудно ожидать воссоздания в эксперименте тех частных реакций, которые входят в нормальную цепь и которые вырываются из общей связи.

В частности, в отношении попыток замены углекислоты муравьиной кислотой можно отметить следующее: углекислота, если она принимает участие в обмене веществ, то, повидимому, во всех случаях она предварительно подвергается более или менее глубокому восстановлению, т. е. является акцептором водорода. Что же касается муравьиной кислоты, то она в большинстве случаев как восстановитель является донатором водорода (акцептором кислорода). Понятно поэтому, что в данной обстановке эти вещества не могут быть равноценными и замещать друг друга.

Представление о том, что значение CO_2 сводится к ее влиянию на pH, Хес считает малообоснованным, так как следы углекислоты лишь в

весьма малой степени могут влиять на pH (хотя высокое содержание CO_2, по данным Larsen, Hartzell и Diol, может снизить его до значения pH = 3,8 [1]).

Хес отмечает также, что по аналогии с влиянием CO_2 на нервные центры высших животных, которые контролируют дыхательные движения, некоторые авторы пытались указывать на возможное активирующее влияние CO_2 на дыхание. Однако основания для этого отсутствуют.

Для выяснения значения углекислоты для микроорганизмов им по совету Клюйвера были поставлены специальные опыты. Эти опыты сводились к изучению восстановления метиленовой сини покоящимися клетками бактерий в присутствии или отсутствие CO_2 и за счет окисления тех или иных веществ в буферных растворах.

Опыты, проведенные с Bact. coli, Bact. prodigiosum, Asp. niger, Sacch. ellipsoideus и Prototheca Zopfii, показали, что в отсутствие CO_2 не происходит обесцвечивания метиленовой сини. Опыты были повторены с заменой бактериальных суспензий мацерационным соком дрожжей, и при поглощении углекислоты щелочью получен эффект угнетения восстановления сини. Эти первые, еще не вполне ясные данные и соображения об участии углекислоты в обмене веществ были подхвачены и истолкованы как гетеротрофная ассимиляция углекислоты, якобы уничтожающая границу между автотрофными и гетеротрофными организмами и делающая эти термины ненужными.

Аналогичные данные о задержке развития бактерий в условиях их культивирования без углекислоты были получены с рядом культур Аристовской (1941), которая приходит к заключению, «что и при гетеротрофном питании организм нуждается в углекислоте и что в большинстве случаев последняя используется им, вероятно, при процессах синтеза» (стр. 713).

В только что вышедшей работе Митюшовой (1952) также приводятся факты, говорящие об угнетении развития микроорганизмов при отсутствии CO_2.

Однако указанные работы Wood и Werkman (1938), а также Krebs (1937) не ставили перед собой вопроса об ассимиляции углекислоты, т. е. об использовании ее углерода в конструктивном обмене, но касались лишь продуктов «брожения», т. е. энергетического обмена.

В этом последнем направлении имеются весьма интересные исследования Barker с сотрудниками, начало которых относится к тому же времени (1936—1949).

Обратившись к изучению процесса образования метана при сбраживании органических веществ, он провел исследование с описанной Омелянским бактерией, которую он называет Methanobacterium Omelijanskii. Эта бактерия сбраживает этиловый спирт с образованием метана.

Вопрос в данном случае сводится к тому, какой углерод при этом подвергается восстановлению в метан.

На первый взгляд представляется возможным предположить, что метан образуется из метильной группы спирта, например, по схеме:

$$\left.\begin{matrix} H \\ CH_3 \end{matrix}\right| \begin{matrix} OH \\ COOH \end{matrix} \rightarrow CH_4 + HCHO + H_2O.$$

Однако имеются старые данные Söhngen (1906), согласно которым метан может образовываться как при сбраживании различных органических кислот, как муравьиная, уксусная и масляная кислоты, так и путем восстановления углекислоты в атмосфере водорода. Этот последний процесс, по Зёнгену, идет следующим образом:

$$4H_2 + CO_2 = CH_4 + 2H_2O.$$

[1] Цитировано по Hes (1938).

На этом основании ван Ниль по словам Баркера [2], высказал предположение, что метан во всех случаях при брожениях образуется за счет восстановления углекислоты.

Эта идея и заставила Баркера обратиться к детальному изучению обмена веществ у Methanobact. Omelijanskii, которая, как оказалось, сбраживает этиловый спирт только до уксусной кислоты.

Баркер вначале пользовался накопительной культурой [3], которую получал, заражая осадком сточных вод среду следующего состава: $CaCO_3$ — 2%; NH_4Cl — 0,075%; K_2HPO_4 — 0,04%; $MgCl_2$ — 0,01%; этиловый спирт — 2% (объемных) или пропиловый спирт — 1% (объемный), или бутиловый спирт — 1% (объемный).

К этой среде на каждые 100 мл добавлялось при заражениях для снижения окислительно-восстановительного потенциала 3 мл раствора, содержащего 1% Na_2S и 5% Na_2CO_3, и затем pH доводился соляной кислотой до 7.

Брожение на этой среде начиналось через два-три дня. После нескольких пересевов культура поступала в опыты, в которых применялось 750 мл субстрата, содержавшего, кроме обычных солей, 8 г мела и 15 мл 96%-ного этилового спирта. Брожение протекало весьма медленно, так что первый анализ проводился через 13 дней от заражения и только с этого момента собирался газ для анализа. Через следующие 13 дней был проведен вторичный анализ. Полученные результаты за вторые 13 дней сведены в следующей таблице (Баркер)

Субстрат	Начальное содержание в г	Конечное содержание в г	Разница	
			в опыте	теоретич.
Этиловый спирт	7,38	5,07	—2,31	—2,31
CO_2	2,07	0,92	—1 15	—1,11
Уксусная кислота . . .	4,79	7,68	+2.89	+3,02
Метан	—	0,418	+0,418	+0,402

Таблица показывает, что при брожении Methanobact. Omelijanskii энергично потребляет этиловый спирт и углекислоту с образованием из первого уксусной кислоты, а из второго метана, что соответствует формуле

$$\underset{46\times 2=92}{2CH_3CH_2OH} + 4(O.H_2) + \underset{44}{CO_2} = \underset{60\times 2=120}{2CH_3COOH} + 4H_2O + \underset{16}{CH_4}$$

Этот процесс аналогичен процессу, установленному Baars (1930) для Vibrio desulfuricans, при котором этиловый спирт окисляется в уксусную кислоту за счет восстановления сульфатов в сероводород:

$$2CH_3CH_2OH + 4(O.H_2) + H_2SO_4 = 2CH_3COOH + H_2S + 6H_2O\ ^4$$

Таким образом, в случае окисления спирта в уксусную кислоту культурой Methanobact. Omelijanskii углекислота выступает в роли

[2] См. Barker (1936), стр. 406.

[3] В последующих работах (1940, 1941) Баркер имел уже этот организм в чистой культуре и подтвердил на ней данные предыдущих работ.

[4] Чаще эту формулу пишут в несколько сокращенном виде:

$$2CH_3CH_2OH + H_2SO_4 = 2CH_3COOH + H_2S + 2H_2O$$

окислителя, подобно азотной кислоте при денитрификации или серной кислоте при десульфатации.

При замене в культуре Methanobact. Omelijanskii этилового спирта на бутиловый было обнаружено, что последний сбраживается более энергично, чем этиловый спирт; при этом пока бутиловый спирт не использован полностью, он окисляется в основном в масляную кислоту в соответствии с формулой:

$$2CH_3CH_2CH_2CH_2OH + 2(O \cdot H_2) + CO_2 = 2CH_3CH_2CH_2COOH + CH_4 + 2H_2O$$

Однако в дальнейшем после потребления бутилового спирта начинает по той же общей схеме потребляться и масляная кислота с образованием уксусной:

$$2CH_3CH_2CH_2COOH + 4[O.H_2] + CO_2 = 4CH_3COOH + CH_4 + 2H_2O$$

Участие углекислоты при брожениях в качестве окислителя, повидимому, гораздо более широко распространено, чем можно было думать раньше. Однако в большинстве случаев ее потребление сопровождается одновременным ее образованием из веществ, подвергающихся окислению. В силу этого при равенстве масштабов того и другого процесса они, естественно, маскируют друг друга. Тем не менее в ряде случаев удается косвенными методами обнаружить ее потребление путем учета баланса.

Так, Clostridium thermoaceticum, выделенная из накопительной культуры целлюлозных бактерий Fontaine и другими (1941), сбраживает глюкозу с образованием в качестве единственного продукта — уксусной кислоты.

Замечательно то, что образование уксусной кислоты при этом не сопровождается образованием углекислоты, как это наблюдается в большинстве брожений, где одним из продуктов брожения является вещество с цепью из двух углеродов. Схема этого брожения на основании аналитических данных представляется в следующем виде:

$$C_6H_{12}O_6 = 3CH_3COOH$$

Правда, фактически выход уксусной кислоты несколько ниже теоретического, соответствующего приведенной формуле, и составляет около 2,5 *M* на молекулу потребленного сахара, но во всяком случае он значительно выше того, который можно было бы ожидать, исходя из обычного представления об образовании двухуглеродных продуктов брожения из трехуглеродных (пировиноградной кислоты) путем декарбоксилирования. Понятно, что во всяком случае выход уксусной кислоты не мог бы превосходить 2 *M* на молекулу гексозы.

Указанные количественные соотношения между глюкозой и уксусной кислотой можно пытаться объяснить, допуская либо расщепление молекулы глюкозы при сбраживании ее на три двухуглеродных фрагмента, либо процесс образования двухуглеродных соединений путем конденсации двух одноуглеродных тел, образующихся из трехуглеродных путем отщепления («декарбоксилирования»).

Для обоснования первого из этих допущений нет никакого фактического материала.

Что же касается второго допущения об образовании уксусной кислоты путем конденсации двух молекул монокарбоновых соединений, то данные в этом направлении имеются (Мантейфель с сотр., 1949, Stephenson и Stickland, 1933). Косвенно эту же возможность подтверждают данные Wood и Werkman об участии углекислоты в образовании янтарной кислоты при пропионовокислом сбраживании глицерина (1938), а также последние данные Ajl и Werkman (1948, 1949) об участии углекислоты в удлинении углеродных цепочек.

Таким образом, повидимому, при сбраживании глюкозы культурой Clostr. thermoaceticum уксусная кислота образуется как непосредственно из триоз путем отщепления C_1-группировки, так и путем конденсации двух C_1-тел.

Обоснованием правильности именно такого толкования могут служить данные опытов Баркера (1949) по сбраживанию Clostr. thermoaceticum пентоз, т. е. сахаров с нечетным числом С-атомов. И в этом случае, хотя здесь не приходится говорить о распадении молекулы сахара только на двухуглеродные звенья, единственным продуктом брожения оказалась уксусная кислота.

Наконец, при замене сахаров пировиноградной кислотой были получены соотношения, соответствующие формуле:

$$4CH_3COCOOH + 2H_2O = 5CH_3COOH + 2CO_2$$

Эти соотношения могут быть поняты только в том случае, если мы примем, что одна молекула уксусной кислоты (лишняя) образовалась за счет конденсации двух монокарбоновых соединений, получающихся в количестве 4 при декарбоксилировании 4 молекул пировиноградной кислоты (ср. Barker, 1944).

В самое последнее время появилась работа Wood (1952), в которой автор ставит задачу проверить возможность образования уксусной кислоты в культуре Clostr. thermoaceticum за счет ее синтеза из углекислоты. Для этой цели он проводил культивирование названной бактерии в присутствии углекислоты с меченым углеродом ($C^{13}O_2$) и пришел к выводу, что ацетат в течение брожения образуется двумя путями: частично путем синтеза обоих углеродных группировок из CO_2, частично за счет сбраживания глюкозы.

По данным Barker и Haas с сотрудниками (1944), Barker, Kamen и Haas (1945), аналогичное использование углекислоты для образования уксусной кислоты имеет место при сбраживании молочной кислоты культурой Butyribacterium rettgeri. Это брожение характеризуется образованием уксусной и масляной кислот, причем образование углекислоты, составляющей всего 0,4 *M* на молекулу молочной кислоты, значительно ниже того количества ее, которое обычно наблюдается при масляно-кислом брожении и которое в соответствии с современными представлениями должно быть в $2^1/_2$ раза больше, как то следует из общепринятой схемы:

$$3CH_3CHOHCOOH \rightarrow CH_3COOH + CH_3CH_2CH_2COOH + 3CO_2 + 3H_2$$

Следовательно, в культуре Butyribact. rettgeri значительная часть углекислоты (около 60%) идет на построение уксусной кислоты.

Изложенные данные приводят к следующим заключениям.

1. Углекислота при анаэробном обмене веществ может служить акцептором водорода подобно азотной кислоте при денитрификации, или серной кислоте при процессе десульфатации.

Поэтому, наряду с явлениями денитрификации, восстановления сульфатов, можно говорить о карбонатвосстановительной функции.

2. Отщепляемая при укорачивании углеродной цепи монокарбоновая группа не во всех случаях превращается в углекислоту. Она может вступать в реакции конденсации, приводящие к образованию двухуглеродных соединений (уксусная кислота), а может быть, и участвовать в образовании более длинных углеродных цепей.

Помимо отмеченного участия углекислоты в качестве окислителя в энергетических процессах, отдельными исследователями высказывалась мысль о том, что она может принимать участие также и в конструктивном обмене.

Эта идея нашла свое подтверждение в последних работах Ajl и Werkman, 1949.

Названные авторы провели детальное исследование с культурой E. coli, имея в виду обнаружить те вещества, которые могут заменить CO_2 в случае ее отсутствия в субстрате.

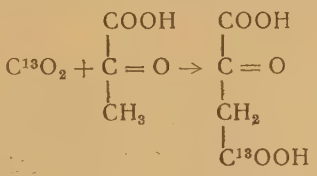
В результате был найден целый ряд веществ, которые при культивировании E. coli заменяют CO_2 и дают не только нормальный, но во многих случаях «пышный» рост. Этими веществами оказались: аргинин, пролин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты, янтарная, фумаровая, яблочная, щавелево-уксусная, α-кетоглутаровая кислоты и из трех основных кислот — цисаконитовая кислота, т. е. «все те соединения, которые являются составными частями окислительного цикла Кребса или их предшественниками в обмене веществ». Это тела с числом углеродных атомов от 6 до 4. Но ни одно из испытанных трехуглеродных соединений в отсутствие CO_2 не создает условий для развития, и только перечисленные четырехуглеродные и пятиуглеродные соединения в этом отношении приводят к эффективной замене углекислоты.

Это обстоятельство авторы связывают с данными Wood и Werkman (ср. также Werkman, 1949), показавшими, что CO_2 потребляется гетеротрофными организмами на образование щавелево-уксусной кислоты [5].

Таким образом, углекислота оказывается необходимой в конструктивном обмене для использования трехуглеродных соединений путем синтеза из них более сложных углеродных скелетов.

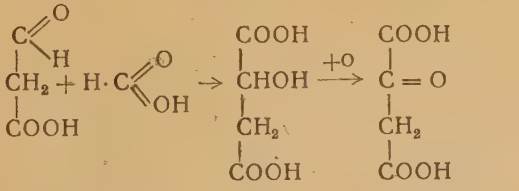
В дальнейших работах Веркмана с сотрудниками, изложенных в его выступлении на IV международном конгрессе микробиологов, было обнаружено превращение не только глицерина, но также и пировиноградной кислоты в дикарбоновую четырехуглеродную кислоту.

В последнем случае, как показали исследования с использованием меченых C^{13}-атомов, углекислота присоединяется к метильной группе пировиноградной кислоты, образуя щавелевоуксусную.

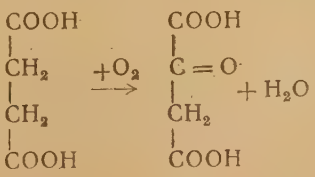


Таким образом, вносится весьма существенная поправка к циклу Кребса, разрывающая его цикличность и показывающая, что четырехуглеродные — бикарбоновые кислоты — могут образоваться не только за

[5] Щавелевоуксусную кислоту можно представить себе как продукт конденсации альдегида малоновой кислоты с муравьиной, с последующим окислением яблочной кислоты:



Ее также можно рассматривать как результат окисления янтарной или яблочной кислоты, т. е. как кетоянтарную:



счет декарбоксилирования шестиуглеродной щавелево-янтарной кислоты, через промежуточное образование пятиуглеродной α-кетоглютаровой кислоты, но также за счет непосредственного синтеза из трехуглеродных соединений и угольной кислоты (или муравьиной):

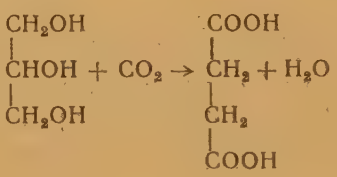
$$1.\ H_2CO_3 + H_2 \rightarrow HCOOH$$

$$2.\ HCOOH + HCH_2COCOOH \rightarrow CHOCH_2COCOOH + H_2O$$

$$3.\ CHO \cdot CH_2COCOOH + O \rightarrow COOHCH_2COCOOH$$

Этот процесс можно рассматривать как сопряженный окислительно-восстановительный процесс, связанный с конденсацией.

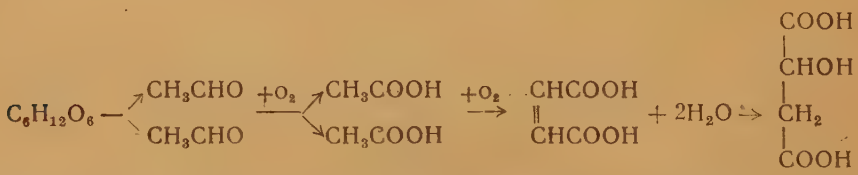
В прежних работах Wood и Werkman (1936) было показано, что четырехуглеродное соединение — янтарная кислота — образуется при развитии пропионовокислых бактерий на средах с глицерином за счет использования углекислоты карбонатов. Схематически этот процесс представляется в следующем виде:



Таким образом, трехуглеродное соединение оказывается необходимым для синтеза четырехуглеродного соединения за счет присоединения к нему углекислоты. После этого дальнейшие синтезы становятся возможными согласно последним данным Айля и Веркмана в отсутствие углекислоты.

Надо отметить, однако, что образование четырехуглеродных соединений может происходить не только с присоединением углекислоты к глицерину или пировиноградной кислоте, как принимают Вуд и Веркман. Известно, что четырехуглеродные соединения могут быть получены путем альдольной, а также ацетоиновой конденсаций уксусного альдегида. Эти соединения не фигурировали в исследовании Вуда и Веркмана.

Кроме того, по данным Буткевича и Федорова (см. Труды Тимирязевского ин-та 1929 г.) с Mucor stolonifer образование этим грибом фумаровой кислоты из сахара проходит промежуточные стадии образования уксусной кислоты, которая при окислении двух ее молекул в метильной группе дает начало фумаровой и в дальнейшем яблочной кислоте:



Надо отметить, что приведенные данные Айля и Веркмана являются по существу развитием тех идей, которые, как указано выше, были высказаны еще в 1921 г. талантливым русским исследователем Лебедевым.

Таковы основные факты. Они показывают, что углекислота является одним из весьма существенных ингредиентов внешнего мира, принимающим активное участие в обмене веществ микроорганизмов.

Но роль ее в различных случаях неодинакова: в одних случаях она является окислителем подобно азотной кислоте при денитрификации или

серной кислоте при восстановлении ее сульфатредуцирующими бактериями.

Вряд ли в этом случае можно говорить об ассимиляции углерода углекислоты, так же как нельзя рассматривать процесс десульфатации как ассимиляцию серы, так же как нельзя говорить об ассимиляции кислорода при дыхании животного.

В этом случае углекислота как акцептор водорода может превращаться в метан или при более легком восстановлении (до муравьиной кислоты) вступать в реакции конденсации, приводящие к синтезу более сложных веществ.

В других случаях она принимает участие в конструктивном обмене, каковое участие можно характеризовать как ассимиляцию. Но и в этом случае следует различать автотрофную и гетеротрофную ассимиляцию углерода углекислоты и ни в коем случае не затушевывать различия того и другого на том основании, что в обоих случаях имеет место ассимиляция.

Дело в том, что гетеротрофная ассимиляция оказывается возможной только в том случае, когда она сопровождается ассимиляцией углерода органических веществ, типа трехуглеродных соединений (например, пировиноградной кислоты).

Но нет фактов, которые показали бы, что гетеротрофные организмы способны ассимилировать углерод углекислоты в отсутствие в среде усвояемых форм углерода двух- или трехуглеродных соединений, т. е. что они способны жить на среде, содержащей в качестве единственного соединения углерода угольную кислоту.

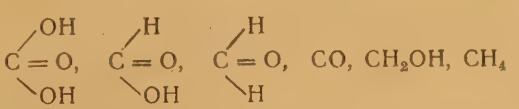
Те организмы, которые способны это осуществлять, заслуживают названия автотрофных.

Таким образом, термин «автотрофность» и «гетеротрофность» по отношению к характеру конструктивного обмена веществ микроорганизмов никоим образом нельзя считать опороченными тем обстоятельством, что угольная кислота может принимать некоторое участие в обмене веществ.

Термины эти остаются полезными, если в них вложить четкое содержание и не требовать от них большего, чем они могут дать.

До тех пор, пока мы будем связывать термины «авто- и гетеротрофность» с отношением организмов к органическим и неорганическим веществам, невозможно конкретизировать их, так как граница между органическими и неорганическими веществами чисто условна и если установление ее имеет определенный смысл для нас при изучении химии, то для бактерий это вряд ли имеет значение.

Действительно, в ряду монокарбоновых соединений —



угольная кислота, муравьиная, формальдегид, окись углерода, метиловый спирт, метан — трудно провести границу, разделяющую их на органические и неорганические вещества, так как все они относятся к области соединений углерода, т. е. к области органической химии, поскольку она определяется как химия углерода.

Сапожников в последней своей статье (1952), касаясь вопроса об автотрофности, связывает ее со степенью окисленности, считая, что углекислоту делает «минеральной» то, что она является «наиболее бедным в энергетическом отношении соединением углерода» (стр. 439).

Такое толкование «минеральности» не вполне понятно. Известно, что азот также дает ряд соединений, различающихся по степени окисленности:

N_2O_5, NO_2, N_2O_3, NO, N_2O, N_2, NH_3

Однако это не делает ни одно из них ни более органическим, ни более «минеральным».

Автор свою мысль продолжает: «Если же взять соединения азота или серы, то в этом случае эти два понятия «минеральный» и «бедный энергией» могут не совпадать».

Соединения серы, как вполне основательно отмечает Сапожников, могут сильно отличаться «по содержанию энергии», но тем не менее и сероводород и серная кислота могут быть использованы различными организмами в процессе их развития.

Однако, когда все разнообразные виды использования серы, например, окисление сероводорода до серной кислоты серобактериями и, наоборот, восстановление серной кислоты до сероводорода, Сапожников рассматривает как способность обоих соединений — серной кислоты и сероводорода — «служит источником серы для различных организмов», то это, мне кажется, не более как неудачное сопоставление на базе неточной терминологии. Несомненно, что в том случае, когда сульфатредуцирующие бактерии восстанавливают серную кислоту в сероводород, то серная кислота не является для них источником серы, так как сера серной кислоты при этом восстановилась в серу сероводорода. Серная кислота в этом случае является акцептором водорода или, как иногда говорят, донатором (источником) кислорода, но никак не серы.

То же с соответствующими изменениями справедливо и по отношению к окислению сероводорода серными бактериями.

Мы склонны считать, что этот способ выражения не более правилен, чем если бы мы стали утверждать, что нитрификаторы питаются аммиаком, окисляя его в нитриты и нитраты.

Четкое содержание в термины «авто- и гетеротрофность» вложено уже самой конструкцией этих терминов.

Автотрофы (самопитающиеся) организмы, не нуждающиеся в том, чтобы те или иные необходимые для их питания вещества создавались другими организмами. Гетеротрофы — организмы, питающиеся за счет веществ, синтезированных другими организмами (гетеротрофы — сапрофиты, паразиты и пр.). Если же мы откажемся от четкого определения терминов, то неизбежной окажется путаница вроде той, которую создает Umbreit в своей статье «Problems of Autotrophy» (1947). Умбрейт принимает, что настоящие автотрофы должны удовлетворять двум следующим условиям.

1. «Единственным источником энергии (?) для них является окисление неорганического материала».

При этом «во всех случаях окисляемый материал специфичен и не может быть заменен каким-нибудь другим».

2. «Двуокись углерода является единственным и незаменимым источником углерода; никакое другое известное в настоящее время соединение углерода не замещает двуокись углерода, как источник углерода для роста» (стр. 157).

К этому автор добавляет, усиливая свои тезисы:

«Важно не то, что автотрофы способны потреблять углекислоту — практически все живые клетки способны к этому (следует ссылка на ряд авторов.— *В. Ш.*), и не то, что CO_2 служит единственным источником углерода, но важно то, что ни одно другое вещество не может потребляться».

Таким образом, создается терминологическая путаница, из которой выбраться нелегко.

Действительно, зеленые растения, для которых по преимуществу кажется применимым термин «автотрофность», должны перекочевать в ряд гетеротрофов, так как для них источником жизнедеятельности яв-

ляется — наряду со светом — дыхание, т. е. окисление сложных органических соединений, но не «окисление неорганического материала», как требует первый тезис Умбрейта.

Так же и пурпурные серобактерии должны, по Умбрейту, быть выключены из числа автотрофных организмов, так как ван Ниль (1933) показал, что при их культивировании сероводород может быть заменен несомненно органическими веществами — пировиноградной и молочной кислотами.

Кроме того, вспоминаются слова С. Н. Виноградского, который писал [3]:

«Пока трудно было бы сказать, существуют ли вообще такие облигатно-автотрофные организмы и особенно бактерии, которых не удалось бы известными искусственными мероприятиями заставить жить гетеротрофно».

И действительно, даже зеленые растения в условиях безбактериального существования оказываются способными к гетеротрофному существованию [6].

И вообще трудно представить себе, чтобы организм мог строить свое тело только исходя из углекислоты. Процесс конструктивного обмена веществ, понятно, предполагает ряд этапов, начинающихся у автотрофных организмов с углекислоты. Совершенно невероятно, чтобы в случае замены углекислоты нормальными промежуточными продуктами биосинтеза, при соблюдении необходимых физико-химических условий для их дальнейшей переработки, дальнейшее использование их оказалось бы неприемлемым для данного организма.

Другое дело, когда мы пытаемся заменить то или иное вещество предполагаемыми промежуточными продуктами, давая их в субстрат не в том виде и не в той физико-химической обстановке (окислительно-восстановительный потенциал и пр.), в которых они подвергаются дальнейшим превращением в живой клетке.

Обращаясь к данным опытов Айля и Веркмана, мы увидим, что углекислота оказывается необходимой в том случае, если в субстрате не имеется четырехуглеродных или пятиуглеродных соединений типа кетоянтарной (щавелево-уксусной), или кето-глутаровой кислот или таких веществ, из которых эти соединения могут образоваться. Таким образом, эти данные показывают, что углекислота оказывается необходимой для превращения трехуглеродных соединений в четырехуглеродные. Но для того чтобы обосновать положение о том, что E. coli, с которой экспериментировали данные авторы, является автотрофным организмом, следовало бы показать, что трехуглеродные соединения могут возникнуть за счет ассимиляции углекислоты в условиях отсутствия в среде каких бы то ни было соединений углерода, кроме нее.

Это еще никем не было показано, а потому и нет оснований говорить о том, что гетеротрофность у микроорганизмов перестала быть реальным фактом. Можно различать два типа организмов соответственно характеру питания.

Первый тип охватывает те организмы, которые оказываются способными строить углеродный скелет всех входящих в состав их тела веществ, исходя в этих биосинтетических процессах из углекислоты или окиси углерода и метана, т. е. оказываются способными нормально развиваться на субстратах, в которых единственным источником углерода является углекислота (соответственно окись углерода или метан).

В природных условиях они оказываются наиболее приспособленными к существованию при отсутствии в субстрате более сложных органических веществ (т. е. соединений углерода). Это, однако, не значит, что

[6] Что касается водорослей, то их способность жить как автотрофно, так и гетеротрофно была известна уже давно (ср. данные о Chlorella Бейеринка, Артари и др.).

они не могут существовать в условиях, когда в субстрате имеются сложные органические вещества и даже использовать их в подходящих физико-химических условиях (Chlorella и другие так называемые миксотрофные организмы).

Второй тип — организмы, требующие для своего развития в качестве материала для синтетических процессов конструктивного обмена веществ соединений углерода более сложных, чем угольная кислота. Возможно, что степень сложности этих веществ может быть различной для различных микроорганизмов. Вопрос этот в достаточной степени пока еще не освещен. Но для E. coli такими сложными соединениями углерода оказались четырех- и пятиуглеродные соединения, которые, повидимому, могут рассматриваться как соединения, созданные жизнедеятельностью тех или иных организмов.

В этих случаях углекислота может принимать участие в процессе удлинения и усложнения углеродных скелетов, приводя к синтезу их.

Отличительной чертой представителей этого типа организмов является то, что они не могут нормально развиваться при наличии в субстрате углекислоты в качестве единственного соединения углерода.

Эти два типа обмена веществ настолько различны физиологически и особенно экологически, что вполне заслуживают терминологической дифференцировки, при условии, что термины будут пониматься в точном соответствии с их определением.

Следует помнить при этом, что термины представляют ценность не тогда, когда они на базе частных сходных моментов объединяют разнородные по существу явления и объекты, но тогда, когда они в совершенно ясной и определенной форме позволяют коротко охарактеризовать разнородные явления или объекты, причем воспринимаются они как точная характеристика их специфических особенностей.

Поэтому мы вправе придти к выводу, что нет оснований стирать границу между понятиями автотрофность и гетеротрофность и, очевидно, первое из них должно оставаться приуроченным к первому из приведенных типов обмена веществ, а второе — ко второму.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова
Биолого-почвенный институт

Получено 26. III. 1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

Аристовская Т. Использование CO_2 и возможность редукции карбоксила гетеротрофами. Микробиология, X, 701, 1941.

Буткевич В. С. и Федоров М. В. Über die Umwandlung der Essigsäure durch Mucor stolonifer etc., Bioch. Z., 207, 302, 1929. См. также Труды Тимирязевского ин-та, 1929.

Виноградский С. Н. Die Eisenbakterien als Anorgoxidanten. Ztbl. Bakt., II Abt., 57, 1, 1922.

Лебедев А. Ф. Об ассимиляции углерода сапрофитами. Изв. Донск. гос. ун-та, стр. 25—32, 1921.

Мантейфель А. Я., Богданова В. и Четверикова И. Взаимосвязь процессов конструктивного и энергетического обменов у гетеротрофных бактерий. Микробиология, XVIII, 118, 1949.

Митюшова Н. М. О необходимости углекислоты для бактерий, окисляющих сорбит в сорбозу. Микробиология, XXI, 265, 1952.

Сапожников Д. И. Эволюция фотосинтеза у низших организмов. Микробиология, XX, 43, 1951.

Ajl S. and Werkman C. Replacement of CO_2 in heterotrophic metabolism. Arch. Biochem., 19, 483, 1948.

Ajl S. and Werkman C., On the mechanism of carbon dioxyde replacement in heterotrophic metabolism. J. Bact., 57, 579, 1949.

Baars J. Over sulfatreductie door bacteria. Diss. Delf., 1930.

Barker H. On the biochemistry of the methan fermentation. Arch. Mikrob., 7, 404, 1936.

Barker H. Studies upon the methan fermentation. The isolation and culture of Methanobacterium Omeljanski. Antonie van Loewehoeck, 6, 201, 1940.

Barker H. V. Biochemical activities of Methanobacteria Omeljanski. J. Biol. Chem., **137**, 153, 1940.
Barker H. Le métabolisme de gaz par les bactéries anaérobies. Ann. Inst. Pasteur, **77**, 361, 1949.
Barker H. and Haas V. Butyribacterium, a new genus of non-sporulating anaerobic bacteria of intestinal origin. J. Bact., **47**, 301, 1944.
Barker H., Kamen M. and Haas V. Carbon dioxide utilisation in the synthesis of acetic and butyric acids by Butyribacterium rettgeri. Proc. Nat. Acad. Sc., **31**, 355, 1945.
Eldsen S. The effect of CO_2 on the production of succinic acid by Bact. coli commune. Bioch. J., **32**, 187, 1938.
Fontaine F., Peterson W., McCoy E., Jonson H. and Ritter G. A new type of cellulose fermentation by Clostridium thermoaceticum. J Bact., **43**, 701, 1941.
Gladstone G. P., Fildes P. and Richardson G. Carbon dioxide as an essential factor in the growth of bacteria. Br. J. exper. Path., **16**, 335, 1935.
Hes J. Action de l'acide carbonique sur les microbes hétérotrophic. Ann. de Fermentation, **4**, 547, 1938.
Krebs H. The rôle of fumarate in the respiration of Bact. coli commune. Bioch. J., **31**, 2095, 1937.
Rockwell G. E. The influence of carbon dioxide on the growth of Bacteria. J. Inf. Dis., **32**, 98, 1923.
Söhngen N. I. Sur le rôle du méthane dans la vie organique. Rec. Travaux chim. Pays Bas, **29**, 238, 1910.
Stephenson M. and Stickland I. The bacterial formation of methan by the reduction of carbone compounds by molecular hydrogen. Bioch. J., **27**, 517, 1933.
Umbreit W. Problems of autotrophic, Bact. Rev., **11**, 157, 1947.
Van Niel C. On the morphologie and physiology of the purple and green sulfur bacteria. Arch. Mikrob., **3**, 1, 1933.
Werkman C. H. Heterotrophic assimilation of carbon dioxide. Fourth internat. Congress for Microbiology, 1947. Coppenhagen, 1949.
Wood H. A Study of carbon dioxide fixation by mass determination of the types of C^{13}-acetate. J. Biol. Chem., **194**, 905, 1952.
Wood H. and Werkman C. The utilisation of CO_2 in the dissimilation of glycerol by the propionic acid bacteria. Bioch. J., **30**, 1936.
Wood H. and Werkman C. The utilisation of CO_2 by the propionic acid bacteria. Bioch. J., **32**, 1938.
Woods D. Hydrogenlyase. IV. The synthesis of formic acid by bacteria. Bioch. J., **30**, 515, 1936.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Entner N., Stanier R. J. Studies on the oxidation of glucose by Pseudomonas fluorescens. (Изучение окисления глюкозы Pseudomonas fluorescens). J. of Bact., v. 62, pp. 181—186, 1951.

Изучался углеводный обмен Ps. fluorescens, которая образует на средах с большим содержанием глюкозы глюконовую и 2-кетоглюконовую кислоты в количествах, близких к теоретическим выходам (90%).

Культуры выращивались на среде следующего состава: NH_4NO_3 — 0,1%, K_2HPO_4 — 0,1%, $MgSO_4$ — 0,05%, глюкозы или аспарагина — 0,15—0,25%, агара — 2%. Для получения бактериальных взвесей 24-часовые культуры Ps. fluorescens смывались с поверхности агара, промывались центрифугированием и взвешивались в фосфатном буфере. Дыхание и кислотообразование измерялись манометрически в аппарате Варбурга. Для устранения адаптивных ферментов был использован метод облучения культур ультрафиолетом. Короткая экспозиция культур в ультрафиолетовых лучах ведет к полному подавлению способности клеток Ps. fluorescens вырабатывать адаптивные ферменты. На образование конститутивных ферментов ультрафиолет не оказывает заметного тормозящего действия.

Оказалось, что культуры Ps. fluorescens, выращенные на аспарагине, интенсивно окисляют глюкозу. Глюконовую же и 2-кетоглюконовую кислоты эти культуры окисляют только после периода адаптации. Если устранить возможность такой адаптации путем облучения культур ультрафиолетом, то глюкоза количественно окисляется облученными культурами в глюконовую кислоту и дальше окисление не идет. Этот факт свидетельствует об участии глюконовой кислоты в качестве промежуточного продукта при окислении глюкозы Ps. fluorescens. Культуры, выращенные на глюкозе, также проводят полное окисление глюкозы в основном через глюконовую кислоту без участия гликолитического механизма. 2-кетоглюконовая кислота, по мнению авторов, не является обязательным участником этого окисления.

Ю. Сорокин

Warburton R. H., Eagles B. A., Campbell I. I. R. **The intermediate metabolism of. Ps. aeruginosa. V. The identification of pyruvate as an intermediate of glucose oxidation.** (Промежуточный обмен Ps. aeruginosa. V. Идентификация пировиноградной кислоты как одного из промежуточных продуктов при окислении глюкозы). Can. J. of Bot., v. 29, pp. 143—146, 1951.

Pseudomonas aeruginosa окисляет глюкозу без участия метаболитов гликолитического механизма — через 2-кетоглюконовую и уксусную кислоты. В свете этих данных авторов интересовал вопрос об участии в этом процессе пировиноградной кислоты. Опыты ставились в сосудиках Варбурга с суспензиями, приготовленными из 16-, 28- и 40-часовых культур. Пировиноградная кислота определялась хроматографически, хроматограммы проявлялись 2—4-динитрофенилгидразоном. Кроме того, в культуральных жидкостях, предварительно упаренных в вакууме, были сделаны качественные пробы на присутствие пировиноградной кислоты (по Friedmann и Haugen). Указанными методами в культурах было установлено наличие пировиноградной кислоты, причем накопление ее не тормозилось флюоридом. Пировиноградная кислота, в свою очередь, энергично окислялась суспензией Ps. aeruginosa.

По мнению авторов, полученные данные подтверждают предположение об отсутствии у Ps. aeruginosa гликолитического механизма, что не исключает, однако, возможности образования пировиноградной кислоты как промежуточного продукта при распаде глюкозы.

Ю. Сорокин

Johns A. F. **The mechanism of propionic acid formation by Clostridium propionicum.** (Механизм образования пропионовой кислоты Clostridium propionicum). J. of Gen. Microb., v. 6, pp. 123—127, 1952.

Для объяснения механизма образования пропионовокислыми бактериями пропионовой кислоты из молочной были предложены 2 схемы: 1) молочная $\xrightarrow{-H_2O}$ акрило-

вая $\xrightarrow{+2H^{\cdot}}$ пропионовая; 2) молочная $\xrightarrow{-2H}$ пировиноградная $\xrightarrow{+CO_2}$ щавелевоуксусная $\xrightarrow{+2H^{\cdot}}$ яблочная $\xrightarrow{-H_2O}$ фумаровая $\xrightarrow{+2H^{\cdot}}$ янтарная $\xrightarrow{-CO_2}$ пропиновая. Установлено, что Propionibacterium pentosaceum и Veilonella gazogenes образуют пропионовую кислоту по второй схеме и не сбраживают акриловой кислоты ($CH_2=CH—COOH$). Cl. propionicum — анаэроб, выделенный из морского ила, в отличие от других пропионовых бактерий, сбраживает акриловую кислоту и, следовательно, проводит брожение по первой схеме.

Автор попытался установить, может ли Cl. propionicum образовывать пропионовую кислоту по второй схеме.

Для решения этого вопроса из 16-часовых культур Cl. propionicum приготавливались взвеси, которые затем испытывались на способности их катализировать отдельные реакции второй схемы. Опыты показали, что этот организм не способен к декарбоксилированию янтарной кислоты, не сбраживает фумаровой и яблочной кислот и не фиксирует CO_2 в карбоксильную группу пропионовой кислоты.

Далее оказалось, что флюорид (NaF), который в концентрации 0,02 *М* тормозит прямое восстановление молочной кислоты, почти полностью прекращает синтез пропионовой кислоты из молочной, тогда как другие пропионовые бактерии в этих условиях нечувствительны к флюориду.

Таким образом, Cl. propionicum имеет другой механизм образования пропионовой кислоты из молочной, чем P. pentosaceum и V. gazogenes.

Ю. Сорокин

Kodicek E., Mistry S. **The microbiological assay of streptogenin with Lactobacillus casei.** (Микробиологическое определение стрепогенина при помощи Lactobacillus casei). J. Biol. Chem., v. 51, No. 1, pp. 108—112, 1952.

Ранее было показано, что в частично гидролизованном казеине содержится гептидообразный фактор, стимулирующий развитие некоторых бактерий. Были предположения, что этот фактор представляет собой дериваты глютаминовой кислоты или ее комбинации с аспарагиновой кислотой, однако точный состав стрепогенина до сих пор не установлен. В настоящей работе авторы разработали метод определения стрепогенина при помощи L. casei, причем стандартом служил частично гидролизованный инсулин. Опыты показали, что неполный гидролизат инсулина стимулирует развитие L. casei на полноценной синтетической среде. Стимуляция заключается, повидимому, в укорочении Lag фазы, но зависит ли она от действия одного вещества или нескольких, решить пока трудно. Частичные гидролизаты различных протеинов оказывали разное воздействие на развитие бактерий: так, например, препарат печени оказался активнее, чем препарат инсулина. Оба препарата были тщательно очищены, так что степень активности не зависела от загрязнения их какими-либо витаминами или другими веществами. Целые необработанные молекулы протеинов — инсулина и пепсина — почти никакого действия на развитие L. casei не оказывали, неактивными были также глютаминовая кислота и глютатион. Незначительная стимуляция развития отмечалась в присутствии глютамина, аспарагина и аспарагиновой кислоты, но и эти вещества не могли заменить частично гидролизованного протеина.

Э. Диканская

Gibson F., Wolds D. **The synthesis of methionine from homocysteine by Escherichia coli.** (Синтез метионина из гомоцистеина в культуре Escherichia coli). Biochem. J., v. 51, No. 1, p. V, 1952.

Авторы пытались в этой работе найти прямое доказательство тому, что витамин B_{12} и парааминобензойная кислота (или фолиевая кислота) включаются в синтез метионина из гомоцистеина. Опыты проводились с двумя формами E. coli. Первая форма, нуждающаяся для развития в парааминобензойной кислоте, выращивалась на среде с минимальным количеством этого витамина, затем клетки отмывались от среды и суспендировались в фосфатном буфере, куда добавлялись глюкоза и гомоцистеин. Образование метионина этой суспензией происходило только тогда, когда в среду вводилась парааминобензойная кислота в довольно значительных концентрациях. Другим объектом исследования служила форма E. coli, нуждающаяся в витамине B_{12}, который может быть заменен метионином. Организм предварительно культивировался на среде с метионином для того, чтобы получить клетки, не содержащие витамина B_{12}. Эти бактерии, так же как и в первом случае, суспендировались в фосфатном буфере с глюкозой и гомоцистеином. Синтез метионина наблюдался только при прибавлении к суспензии витамина B_{12} в количестве 0,1—1 μг в 1 мл. Интересно, что этот витамин в таких же концентрациях стимулировал образование метионина в культурах Proteus vulgaris и у тех рас E. coli, которые для развития в витамине B_{12} не нуждаются. Синтез метионина ускоряется при прибавлении к бактериальным суспензиям серина, который, по мнению авторов, является промежуточным продуктом в процессе образования метионина.

Э. Диканская

Mudd S., Winterscheld L. C., DeLamater E. D., Henderson H. I. **Evidence suggesting that the granules of Mycobacteria are mitochondria.** (О доказательствах в пользу того, что гранулы микобактерий являются митохондриями). J Bact., v. 62, pp. 459—473, 1951.

В клетках микобактерий можно обнаружить гранулы. Роберт Кох принимал эти гранулы за споры; другие исследователи считали, что эти гранулы являются гонидиями или клеточными ядрами. Авторы сообщают, что им удалось идентифицировать эти гранулы как клеточные органоиды, аналогичные митохондриям высших растений. Опыты проводились с Mycobacterium thamnopheos и Mycobacterium tuberculosis. Препараты готовились из культур, выращенных на коллодиевой пленке, помещенной на поверхность агаризованной среды. Для идентификации гранул были применены реакции, которые выявляют в форменных элементах клетки определенные ферментные системы и применяются для идентификации митохондрий: восстановление тетразола и неотетразола, окисление смеси диметил-*p*-фенилендиамина и α-нафтола (реактив Nadi для выявления локализации цитохромоксидазы), окраска кислым гематином для выявления фосфолипидов, окраска янусгрюн, специфичная для митохондрий, окраска по Гартману, также специфичная для митохондрий.

Оказалось, что гранулы микобактерий дают положительные реакции со всеми перечисленными индикаторами на митохондрии. Восстанавливая неотетразол до формазона, они окрашиваются в красный цвет. В присутствии реактива Nadi, дающего при наличии цитохромоксидазы синюю окраску, вследствие образования индофенолблау, гранулы окрашиваются в синий цвет. При добавлении янусгрюн гранулы окрашиваются сначала в синий цвет, переходящий затем в красный, и обесцвечиваются. Морфологически гранулы сходны с митохондриями клеток животных тканей. При изучении гранул под электронным микроскопом у них была обнаружена поверхностная мембрана.

Авторы считают, что все эти факты заставляют признать гранулы микобактерий клеточными органоидами, идентичными митохондриям.

Ю. Сорокин

Seeley H., del Rio Estrada C. **The role of riboflavin in the formation and disposal of hydrogen peroxide by Streptococcus faecalis.** (Роль рибофлавина в образовании и разрушении перекиси водорода в культуре Streptococcus faecalis). J. Bact., v. 62. No. 5, pp. 649—656, 1951.

Ранее было установлено, что некоторые расы Str. faecalis при аэробном культивировании окисляют большое число разнообразных субстратов, не накапливая при этом перекиси. Между тем бактерии эти не содержат ни каталазы, ни других обычных включающих гематин пероксидаз, которые находят в растениях. Авторы предположили, что в реакцию с перекисью может вступать какой-либо донатор водорода энзимной природы и, в частности, что таким донатором может служить восстановленная форма рибофлавина.

Специальными опытами было показано, что при аэробном культивировании клетки Str. faecalis содержат значительно больше рибофлавина, чем при анаэробном, причем основная часть витамина в аэробной культуре находится либо в свободной, либо в легко отщепляемой форме. Так как Str. faecalis не может расти без внешнего снабжения рибофлавином, то, повидимому, клетки этого организма могут концентрировать большее количество витамина из среды в условиях аэробного культивирования.

Для доказательства участка рибофлавина в реакции с H_2O_2 было проведено три серии опытов. В первой серии клетки Str. faecalis, предварительно выращенные анаэробно, переносились на свежие среды с разными дозами рибофлавина и культивировались в аэробных условиях. При этом перекись сначала накапливалась, а потом исчезала из культуры и тем скорее, чем больше рибофлавина было добавлено в среду с окисляемым субстратом, который служил поставщиком H_2. Если, как показала вторая серия опытов, Str. faecalis с самого начала культивировался в аэробных условиях, то при перенесении на свежую среду с добавлением рибофлавина перекись в культуре почти совсем не образовывалась. Очевидно, при перенесении из анаэробных условий в аэробные должно пройти некоторое время, прежде чем клетки смогут концентрировать рибофлавин в нужном количестве. В третьей серии опытов к аэробной культуре Str. faecalis прибавлялись различные количества перекиси и рибофлавина. Прибавленная перекись исчезала тем скорее, чем больше рибофлавина было введено в среду. Анаэробные культуры, не разрушающие перекись в обычных условиях, приобретают эту способность при прибавлении экстракта аэробно растущих клеток, хотя сам по себе экстракт с перекисью не реагирует.

Полученные данные позволили авторам заключить, что в культурах Str. faecalis, обладающих пероксидативной активностью, разрушение свободной перекиси происходит за счет реакции с флавиновыми соединениями. Выдерживание анаэробных культур в аэробных условиях стимулирует, видимо, образование в них веществ, которые действуют как ко-пероксидазы.

Э. Диканская

Bregoff H. M. and Kamen M. D. **Studies on the metabolism of photosynthetic Bacteria. XIV. Quantitative relations. between malate dissimilation, photoproduction of hydrogen and nitrogen metabolism in Rhodospirillum rubrum.** (Изучение обмена фотосинтезирующих бактерий. XIV. Количественные соотношения между разложением яблочной кислоты, фотовыделением водорода и азотным обменом у Rhodospirillum rubrum). Arch. Bioch. Bioph., v. 36, pp. 202—220, 1952.

Установлено, что пурпурная несерная бактерия Rhodospirillum rubrum разлагает на свету органические кислоты с выделением молекулярного водорода. Так, разложение яблочной кислоты покоящимися клетками этого организма на свету в атмосфере гелия происходит согласно уравнению:

$$C_4H_6O_5 + H_2O \xrightarrow{\text{свет}} C_2H_4O_2 + 2CO_2 + 2H_2$$

Авторы подвергли детальному изучению связь азотного обмена с фотовыделением водорода у Rh. rubrum.

Опыты проводились как с развивающимися культурами, так и со взвесями клеток. Опыты с развивающимися культурами ставились на среде с яблочной кислотой. Контрольные склянки не заражались. Интенсивность роста определялась по величине осадка, который получался при центрифугировании культур. Опыты со взвесями Rh. rubrum проводились в сильно освещенных сосудах Варбурга в атмосфере гелия. Взвеси готовились на фосфатном буфере pH = 6,6.

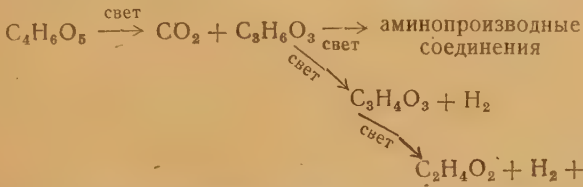
Опыты показали, что в отсутствие источников азота молярное соотношение потребленной яблочной кислоты: $H_2 : CO_2$ равняется 1 : 1 : 1. При добавлении же в сосудики NH_4Cl фотовыделение водорода полностью прекращалось. В этом случае при разложении яблочной кислоты выделялась только углекислота в эквимолекулярном соотношении. Скорость разложения яблочной кислоты в присутствии NH_4Cl значительно возрастает. Тормозящее действие NH_4Cl на фоторедукцию обратимо, так как удаление аммония снимает эффект торможения.

Молекулярный азот действует на фотовыделение H_2 аналогично NH_4Cl. Изучение потребления в этих условиях NH_4Cl показало, что клетки Rh. rubrum усваивают NH_4Cl только на свету и в присутствии субстрата (яблочной или пировиноградной кислоты). Добавление N_2 не отражалось на скорости потребления NH_4Cl.

В опытах с развивающимися культурами было изучено влияние аминокислот на рост и фотовыделение водорода Rh. rubrum. Оказалось, что по характеру действия аминокислоты можно разделить на три группы: аминокислоты первой группы — лейцин, фенилаланин, тирозин и другие — тормозят размножение бактерий; аминокислоты второй группы или не влияют на размножение Rh. rubrum, или стимулируют его, но в одинаковой степени тормозят фотовыделение H_2. В присутствии этих аминокислот в среде появляется NH_3.

Ко второй группе относятся аминокислоты: аланин, серин, гистидин, глютамин, цистин, триптофан и другие. Аминокислоты третьей группы — аспарагиновая, глютаминовая, пролин, аргинин и другие — не влияют ни на скорость роста, ни на фотовыделение H_2. NH_3 в их присутствии не образуется.

Суммируя результаты своих исследований, авторы допускают возможность таких путей деградации яблочной кислоты на свету в присутствии и в отсутствие NH_4Cl:



Однако, по их мнению, такая схема все же не объясняет отсутствия стехиометрических соотношений между количеством потребленного аммония и количеством разложенной яблочной кислоты.

Тормозящее действие некоторых аминокислот на фотовыделение H_2 авторы объясняют образованием NH_3 при их дезаминировании.

Ю. Сорокин

Clark F. M. and Fins L. R. **The anaerobic decomposition of benzoic acid during methane fermentation.** (Анаэробное разложение бензойной кислоты в процессе метанового брожения). Arch. Bioch. Bioph., v. 36, pp. 26—33, 1952.

Авторы изучали механизм анаэробного разложения бензойной кислоты метановыми бактериями. Смешанные культуры метановых бактерий, разлагающих бензойную кислоту, получались путем заражения «активным илом» среды Баркера с добавлением бензойной кислоты в качестве единственного источника углерода или на той же среде с уксусной кислотой. В последнем случае культура дополнительно адаптировалась в течение двух-трех недель к бензойной кислоте. Опыты проводились в бродильных колбочках емкостью 100 мл при 37° в строго анаэробных условиях.

Для выяснения участия CO_2 в образовании метана были поставлены опыты с добавлением в среду меченого бикарбоната ($NaHC^{14}O_3$). Определение C^{14} в метане производилось после отделения CO_2 от метана и сожжения последнего до CO_2 в присутствии $Ba(OH)_2$ с образованием $BaCO_3$.

Было установлено, что бензойная кислота сбраживается смешанной культурой метановых бактерий до метана и углекислоты. Количество образовавшегося газа составляло около 90% от теоретического количества. Далее оказалось, что при сбраживании бензойной кислоты в присутствии меченого бикарбоната образуется меченый метан (до 8,9% активности в CH_4 от введенной).

Авторы заключают, что углеродные атомы около $^1/_4$ метана, образующегося при сбраживании бензойной кислоты, происходят из углерода CO_2. Углерод остальных $^3/_4$ метана является углеродом бензойной кислоты.

Ю. Сорокин

Dagley S., Fewster M. E. and Happold F. C. **The bacterial oxidation of phenylacetic acid.** (Окисление фенилуксусной кислоты бактериями). J. of Bact., v. 63, pp. 327—336, 1952.

Недавние исследования показали, что полное окисление пировиноградной кислоты у бактерий происходит с участием циклов ди- и трикарбоновых кислот. В свете этих данных изучались пути окисления ароматических веществ Vibrio «0,1» — организмом, изолированным из почвы и способным использовать фенол и его производные в качестве единственного источника углерода. Vibrio «0,1» выращивался на среде: источник углерода — 0,01 *M*; $(NH_4)_2SO_4$ — 0,1 г; K_2HPO_4 — 0,5 г; NaCl — 5 г; $MgCl_2$ — 0,5 г; $CaCl_2$ — 0,1 г; $CuSO_4$ — 10 мг; $ZnSO_4$ — 8 мг; $FeCl_3$ — 10 мг; $MgSO_4$ — 3 мг; бидистиллированная вода — 1 л. Культуры аэрировались слабым током воздуха. Опыты со взвесями проводились в аппарате Варбурга.

Оказалось, что при окислении бензойной кислоты суспензией Vibrio «0,1», выращенного на бензойной кислоте, образуются кетокислоты в качестве промежуточных продуктов. Более детальное изучение этих кетокислот при помощи хроматографии показало, что окисление бензойной кислоты сопровождается накоплением пировиноградной, -кетоадипиновой и α-кетоглютаровой кислот. В суспензии клеток Vibrio «0,1», выращенных на фенилуксусной кислоте, при окислении последней образуются пировиноградная и α-кетоглютаровая кислоты; α-кетоадипиновая в этом случае не образуется.

Авторы полагают, что хотя и возможны разные пути окисления бактериями бензойной и фенилуксусной кислот, тем не менее -кетоглютаровая кислота является общим промежуточным продуктом в обоих случаях. Далее было показано, что Vibrio «01» интенсивно окисляет компоненты цикла трикарбоновых кислот, а также обладает способностью синтезировать кетокислоты (пировиноградную и α-кетоглютаровую) из яблочной, фумаровой, янтарной и лимонной кислот.

Авторы приходят к заключению, что Vibrio «01» окисляет ароматические соединения через цикл трикарбоновых кислот. Уксусную кислоту, по их мнению, этот организм окисляет через цикл дикарбоновых кислот.

Ю. Сорокин

Stadtman E. R., Katz J. and Barker H. A. **Cyanide induced acetylation of aminoacid by ensymes of Clostridium kluyveri** (Ферментативное ацетилирование аминокислот препаратом Clostridium kluyveri, вызванное цианидом). J. of Biol. Chem., v. 145, pp. 779—785, 1952.

При окислении этилового спирта и масляной кислоты препаратом из клеток Cl. kluyveri образуется ацетилфосфат как промежуточный продукт окисления. Оказалось, что цианид в концентрации 0,1 *M* тормозит накопление ацетилфосфата в процессе окисления в гораздо большей степени, чем само окисление.

При инкубации ацетилфосфата с препаратом Cl. kluyveri в присутствии цианида наблюдалось очень быстрое разрушение этого соединения, не сопровождавшееся, однако, накоплением уксусной кислоты. Разрушение ацетилфосфата в присутствии цианида является процессом ферментативным — трехминутное кипячение прекращает его дальнейшее разрушение. Было замечено, кроме того, что исчезновение ацетилфосфата сопровождается фиксацией свободных ацетильных групп в состав каких-то соединений.

С применением меченого ацетилфосфата было установлено, что ацетильные группы ацетилфосфата связываются в присутствии цианида в состав белковой фракции самого ферментного препарата.

Авторы предположили, что цианид в присутствии ацетилфосфата стимулирует ферментативное ацетилирование свободных аминогрупп аминокислот, входящих в состав белка. Оказалось, что в присутствии цианида и ацетилфосфата наблюдается интенсивное ферментативное ацетилирование аминокислот согласно схеме:

$$CH_3COOPH_2O_3 + H-N\begin{matrix}R\\ \diagdown\\ \diagup\\ COOH\end{matrix} \rightarrow CH_3CO-N\begin{matrix}R\\ |\\ COOH\end{matrix} + H_3PO_4$$

Таким путем было произведено ацетилирование лейцина и глицина. Причину стимулирующего действия цианида на ферментативное ацетилирование аминокислот авторы видят в том, что цианид, препятствуя ацетилированию ацетата, направляет процесс ацетилирования по другому, нефизиологическому, по их мнению, пути.

Ю. Сорокин

Gest H. **Properties of cell free hydrogenases of E. coli and Rhodospirillum rubrum.** (Свойства бесклеточных препаратов гидрогеназы из клеток E. coli и Rh. rubrum). J. Bact., v. 63, pp. 111—121, 1952.

Считается, что одним из возможных ферментов, обеспечивающих выделение молекулярного водорода в бактериальных брожениях, может являться гидрогеназа, которая катализирует следующую обратимую реакцию:

$$H_2 \gtrless 2H^+ + 2e$$

Опираясь на это предположение, автор провел сравнительное изучение свойств гидрогеназы у двух организмов, сильно различающихся по характеру обмена — у E. coli и у Rh. rubrum — фотосинтезирующей пурпурной бактерии, осуществляющей фотохимическое выделение H_2 из органических соединений и фиксацию молекулярного азота.

Активность гидрогеназы определялась по поглощению H_2 в бесклеточных экстрактах, приготовленных путем растирания бактерий со стеклянной пылью. Опыты показали, что гидрогеназа E. coli сходна по ряду своих свойств с гидрогеназой Rh. rubrum. Например, гидрогеназа E. coli, так же как и гидрогеназа Rh. rubrum, инактивируется кислородом, причем эта инактивация не является следствием окисления кислородом сульфгидрильных групп гидрогеназы, как считалось раньше. Далее, оба препарата гидрогеназы не восстанавливают $K_3[Fe(CN)_6]$ и другие акцепторы водорода (фумаровую кислоту, SO''_2, NO'_2, рибофлавин). Суспензии Rh. rubrum и E. coli восстанавливают $K_3Fe(CN)_6$.

Спектроскопирование 50%-ных растворов полуочищенных препаратов гидрогеназы выявило линии, характерные для железо-порфириновых ферментов. Эти линии исчезали при инкубации препаратов с O_2 и появлялись в присутствии H_2. Однако автор не считает этот факт достаточным доказательством Fe-порфириновой структуры кофермента гидрогеназы, так как, по его мнению, Fe-порфириновые ферменты могут участвовать не только в активировании, но и в переносе водорода. Автор полагает, что ферментные системы, обеспечивающие выделение водорода различными организмами, включают в себя гидрогеназу.

Ю. Сорокин

Nossal P. M. **The decarboxylation of *l*-malic acid by Lactobacillus arabinosus.** (Декарбоксилирование *l*-яблочной кислоты Lactobacillus arabinosus). Biochem. J., v. 48, N 1, p. XVII, 1951.

Автор исследовал действие отмытой суспензии клеток Lactobac. arabinosus на *l*-яблочную кислоту и установил, что интенсивность разложения последней до молочной кислоты и CO_2, характеризуемая $Q_{CO_2}^{25^\circ}$, увеличивается в 50 раз ($Q_{CO_2}^{25^\circ} = 50$) при прибавлении $2{,}5 \times 10^{-3}$ M $MnCl_2$ и 10^{-1} M KH_2PO_4 в присутствии $2{,}5 \times 10^{-3}$ M глюкозы. Поскольку аденозинтрифосфат, $Na_4P_2O_7$, $NaPO_3$ и NaH_2PO_4 не могли заменить KH_2PO_4 и поскольку KCl в отличие от NaCl был так же эффективен, как KH_2PO_4, а NaH_2PO_4 в присутствии KCl не был активен, автор считает, что в ускорении скорости реакции декарбоксилирования *l*-яблочной кислоты активную роль играют ионы K^+. В 4,0 мл среды, содержащей 1,5 мг клеточной суспензии (сухой вес); $2{,}5 \times 10^{-3}$ M глюкозы; $2{,}5 \times 10^{-3}$ M $MnCl_2$; $2{,}5 \times 10^{-3}$ M буферного раствора ацетата Na; 20 μM соли *dl*-яблочной кислоты; при pH = 5 и температуре 25° (оптимальная температура 35°) количество CO_2 в мл, образовавшиеся за 30 мин., увеличивается от 36 мл в отсутствие KCl до 186 мл при наличии $1{,}0 \times 10^{-1}$ M иона K^+ в среде.

И. В. Конова

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Труды Института микробиологии АН СССР. Издательство Академии Наук СССР. 1951, стр. 189. Ц. 13 руб.

В 1951 г. вышел в свет первый том «Трудов Института микробиологии АН СССР». Издание трудов ведущего научно-исследовательского учреждения в области микробиологии будет встречено с удовлетворением в широких кругах советских биологов.

Первый том трудов содержит 10 статей, посвященных актуальным проблемам современной биологии.

В статье Н. Д. Иерусалимского «Проблема онтогенеза бактерий и пути к ее разрешению» разбирается один из труднейших вопросов микробиологии — вопрос о движущих силах развития бактерий, о формах их развития. Автор правильно оценивает физиологические процессы, происходящие в жизнедеятельных бактериальных клетках, как ведущие процессы, обуславливающие качественные особенности онтогенеза бактерий. Эти процессы определяют последовательные этапы развития бактериальных клеток, осуществление которых требует определенных условий. Прохождение таких этапов развития приводит к качественно новым состояниям, связанным с функциональными и морфологическими изменениями бактерий. Анализ этих этапов — «онтогенетический анализ» — автор сближает со стадийным анализом в смысле его трактовки акад. Лысенко в применении к цветковым растениям. Автор считает, что «в известном смысле» между обеими формами указанных анализов есть соответствие. Мы думаем, что стадийность есть общий закон развития организмов. Вскрытие его в применении к тем или иным организмам, в том числе и к бактериям, осуществляется общим методом стадийного анализа. Содержание же такого анализа, характер самих стадий развития, конечно, зависят от специфики обмена веществ и конкретных условий развития изучаемых организмов.

Автор справедливо отмечает трудности в рассмотрении данного вопроса, возникающие из-за недостатка знаний о жизненно необходимых этапах в развитии микроорганизмов.

Тем не менее в статье приводятся примеры, хорошо иллюстрирующие стадийный анализ развития у некоторых бактерий, например анализ спорообразования у маслянокислых бактерий.

Автор показывает, что спорообразование у этой бактерии представляет собой двустадийный процесс. Для приобретения способности к спорообразованию бактерии должны развиваться в среде, возможно полно обеспечивающей их потребности на этой стадии. Однако, когда эта способность уже приобретена, бактерии, оставаясь в тех же условиях, не спорообразуют. Для этого нужны новые условия, к которым относится недостаток азота в питательной среде и накопление в ней продуктов обмена.

Элементы стадийного развития автор демонстрирует также на ацетонобутиловых бактериях. Физиологически молодая культура этой бактерии неспособна снижать кислотность среды за счет переработки избыточной кислоты в нейтральные вещества. Но, проходя некоторый этап жизни, стадию развития, культура приобретает это физиологическое свойство, что обеспечивает ее нормальное развитие, включая спорообразование. Для прохождения указанной стадии культура требует определенного значения pH среды и несколько сниженного содержания азота в питательной среде. В последующей стадии, напротив, возрастает потребность в повышенных дозах азота; что же касается pH среды, то культура оказывается способной к его регулированию путем превращения части кислоты в нейтральные продукты.

Эти примеры показывают, что хорошее знание физиологии данного микроорганизма позволяет ясно обрисовать стадийные изменения, протекающие в разные периоды его жизнедеятельности, и тем самым определить движущие силы онтогенеза и его цикл.

Без этого знания правильное решение вопроса об онтогенезе бактерий невозможно, а произвольное толкование морфологических картин в культуре легко может увести в сторону фантастических предположений, ничего общего не имеющих с описанием действительных, закономерных фаз онтогенеза.

Автор затрагивает еще ряд других сторон этого вопроса. Статья написана интересно, автору удалось оттенить в ней наиболее важные моменты в проблематике онтогенеза бактерий и, что наиболее важно, показать возможные пути к ее разрешению.

Статья Г. П. Калины «Фильтрующиеся формы бактерий» посвящена одному из животрепещущих вопросов современной микробиологии — неклеточным формам существования микроорганизмов. Автор ограничил себя преимущественным освещением современного состояния вопроса. В статье отмечаются большие пробелы в изучении

фильтрующихся форм бактерий и дается объяснение слабого развития в прошлом этого раздела микробиологии. Закономерное образование в культурах различных бактерий фильтрующихся форм в настоящее время не вызывает сомнения. Но характеристика этих форм все еще очень неполна. Ничего не известно о биохимическом составе и о морфологии фильтрующихся форм. Методы их выявления остаются все еще несовершенными и опыты по их выращиванию не всегда воспроизводятся.

Лучшим методом выращивания фильтрующихся форм считался метод кормилок, предложенный в 1932 г. Сукневым и Вольферц. Автор отмечает ряд существенных недостатков, присущих этому методу. Он пишет: «В сущности, метод кормилок в настоящее время представляет собой уже пройденный этап; этот метод должен быть заменен более совершенным». Однако автор не открывает в этом направлении новой перспективы.

Автор разделяет представления ряда ученых о генетических взаимосвязях между бактериями и вирусами. При этом он ссылается на работы Гамалея, Крестовниковой и Бошьяна. Крестовникова и Бошьян действительно привели экспериментальные данные в пользу этого заключения, но в их работах далеко еще не все ясно. Очевидно, для выяснения этого вопроса необходимы дальнейшие исследования.

Раздел «Теории стадийного развития бактерий» автор осветил очень кратко. Неясно, любую ли фильтрующуюся форму микроба он считает стадией его развития. Нам кажется, что фильтрующееся состояние микробов может быть вызвано как закономерной стадией развития, так и случайными, например, механическими воздействиями, приводящими к разрыву и измельчению микробной клетки. И в том и в другом случае результат последующего развития может оказаться сходным — будет обнаружен рост вторичных колоний из фильтратов, но биологический смысл этих явлений, очевидно, будет различен.

Трудно также согласиться с мнением автора, что любые формы вирусов должны быть генетически связаны с микробами. Существование неклеточных организмов, филогенез которых является доклеточным филогенезом и генетически не связан с клеточными формами, представляется вероятным. В качестве гипотезы целесообразнее принять, что и сегодня существует мир самостоятельных доклеточных организмов, из которых мы пока знаем лишь небольшое число паразитических — патогенных — форм в виде некоторых вирусов.

Большой интерес представляет попытка автора вызвать вторичный рост из нуклеопротеидной фракции дизентерийных бактерий, полученной химическим путем. Результат одного опыта он оценивает как положительный, когда вокруг кольцевидного роста стафилококка, служившего в качестве кормилки, появились прозрачные микроколонии. Эти культуры после полутора месяцев хранения приобрели способность агглютинироваться флекснеровской сывороткой. К сожалению, при повторении опыта этот результат воспроизвести не удалось.

Как видно из изложенного, в статье Калины ставится ряд вопросов, имеющих чрезвычайно большое значение для микробиологии и, что важно, автор при обсуждении их привлекает свой опыт многолетней экспериментальной работы.

В статье М. Н. Мейселя и Г. А. Медведевой «Против извращения и фальсификации морганистами цитологии дрожжевых организмов» показывается полная несостоятельность и псевдонаучность морганистских представлений о структурных элементах дрожжевой клетки и их функций. Убедительность своих выводов об извращении и фальсификации морганистами цитологии дрожжевых клеток авторы подтверждают не только литературными ссылками на авторитетных исследователей в этой области, а главным образом своим собственным исследовательским и экспериментальным материалом.

Детальному разбору и уничтожающей критике подвергнуты работы морганиста Линдегрена, опубликовавшего в 1949 г. книгу, посвященную цитологии и генетике дрожжей.

Стремясь во что бы то ни стало обосновать морганистскую хромосомную теорию наследственности и внедрить ее в область микробиологии, Линдегрен прибегает, как показывают авторы, «к явной фальсификации фактов, к изображению того, что ему хочется видеть, как, якобы, реально существующее».

Вполне понятно, что в первую очередь Линдегрена интересовал вопрос о ядре и о хромосомах у дрожжевых организмов. Не считаясь с многочисленными обстоятельными исследованиями различных авторов последних лет, Линдегрен принимает за ядро центральную вакуолю дрожжевой клетки, а истинное ядро, лежащее в цитоплазме,— за центросому. Вакуолярное содержимое объявляется при этом ядерным соком; в нем после некоторой и довольно грубой обработки будто бы можно обнаружить свободно плавающие крупные хромосомы. Нередко выпадающая в вакуоле волютиновая гранула принимается за ядрышко.

Основываясь на многочисленных исследованиях и тщательно проведенных наблюдениях за поведением вакуолярного аппарата дрожжевых клеток, авторы статьи показывают спекулятивность и абсурдность утверждений Линдегрена, выдающего вакуолю за ядро клетки. В то же время убедительно показывается, что линдегреновская «центросома» является типичным ядром дрожжевой клетки. Вследствие этого со всей отчетливостью выявляется ложность приводимых Линдегреном фактов и лженаучность возводимых на их основе «теорий».

Говоря об органоидах дрожжевой клетки, Линдегрен выдает, например, липоидные гранулы за митохондрии (хондриосомы), показывая тем самым свою полную некомпетентность и невежество в вопросах цитологии дрожжевых клеток.

Глубокие и всесторонние функционально-морфологические исследования дрожжевых организмов, проводившиеся в течение многих лет Мейселем и его сотрудниками, позволили авторам статьи показать на своем фактическом материале несостоятельность и спекулятивность представлений и других видных морганистов (Винге, Бидл, Додж и др.), пытающихся обосновать свои реакционные морганистские теории на изучении цитологических и биохимических особенностей дрожжевых и мицелиальных грибов. В результате критического анализа теоретических представлений и фактического материала морганистов авторы приходят к следующим заключениям: «1) Во многих случаях их фактический материал неверен по причине грубых дефектов в методике и ошибок наблюдений; 2) в тех случаях, когда морганисты вынуждены более или менее точно регистрировать факты,— эти факты оказываются в резком противоречии с их «теорией» и 3) чтобы догматически поддержать свою «теорию», морганисты прибегают к сознательному искажению наблюдаемых фактов или к таким видоизменениям своих «теорий», которые подчеркивают их полную несостоятельность».

Работа Мейселя и Медведевой «Против извращений и фальсификации морганистами цитологии дрожжевых организмов» является ценным вкладом в борьбу с реакционными морганистскими представлениями в области микробиологии. С особым сожалением поэтому приходится отметить, что приведенные в статье микрофотоснимки дрожжевых организмов напечатаны очень неудачно.

Статья В. И. Кудрявцева «К проблеме вида у микроорганизмов», как показывает ее название, посвящена одному из наиболее актуальных вопросов биологии — вопросу о закономерности видообразования и классификации видов.

В историческом обзоре систем и принципов классификации организмов автор дает подробный критический анализ различного рода идеалистических и субъективистских направлений в систематике, показывает несостоятельность и реакционность этих направлений. В противовес идеалистическим и субъективистским подходам в систематике автором развиваются принципы дарвиновской естественной системы классификации, вытекающей из родственного происхождения организмов. Дарвиновский принцип классификации в полной мере применяется автором и к систематике группы грибов аскомицетов, которые им подробно изучались и классифицировались.

Так, по общности циклов развития (от споры до споры) все изучавшиеся дрожжевые организмы были распределены по родам. Виды в пределах рода определялись следующим образом:

«1. По общим для всех определяемых особей признакам или свойствам класса, порядка, семейства и рода.

2. По общему для всех данных особей месту в экономии природы (характеру местообитания), отличному от мест других видов такого же рода.

3. По общим для всех определяемых особей приспособлениям к условиям их постоянного местообитания».

Автор указывает, что «только наличие всех этих признаков или свойств у данных организмов достоверно укажет нам вид, к которому они принадлежат».

Но читатель вправе задать вопрос: почему автор статьи о проблеме вида ограничивается дарвиновской теорией эволюции и видообразования? В статье не разбираются и не критикуются ошибочные положения Дарвина о виде, вытекающие из его концепции плоского эволюционизма. Из определения вида, данного автором, выпал такой существенный показатель, как наличие конкурентных, антагонистических взаимоотношений между определяемыми видами одного и того же рода и отсутствие таких конкурентных взаимоотношений между индивидуумами одного и того же вида. Известно, что Лысенко в своем определении вида подчеркивает именно это положение. Он говорит, что «качественное отличие внутривидовых взаимоотношений от межвидовых взаимоотношений является одним из важнейших критериев для различения видовых форм от разновидностей».

Кудрявцев пишет, что в пределах вида им наблюдались особи, обладающие приспособлениями, качественно отличными от тех, которыми обладал вид в целом. Количественно же эти приспособления были выражены весьма слабо. И далее делается такой вывод: «В данном случае мы, повидимому, имели дело с организмами зачинающегося нового вида, но еще не ставшего таковым». Но ведь это и есть дарвиновская разновидность, из которой постепенно должен образоваться новый вид. Между тем Лысенко указывает, что «неверным является утверждение, что разновидность есть зачинающийся вид...», что «разновидности — это формы существования данного вида, а не ступеньки его превращения в другой вид».

Трудно также согласиться с той схемой возникновения нового вида из старого, которую рисует автор. По этой схеме не новый вид, возникший из старого, вытесняет старый, родительский, а наоборот старый вид вытесняет новый. Вследствие этого центр тяжести в обосновании становления нового вида переносится на «перевес в борьбе» нового вида с «другими видами». Однако трудно себе представить возникновение нового вида из старого и его процветание, если он не вытеснит при этом старый, родительский вид. Лысенко по этому поводу пишет следующее: «заро-

дившиеся в недрах старого вида единичные экземпляры другого вида, как более соответствующие данным условиям, быстро размножаются и способны вытеснять в этих условиях тот вид, в недрах которого они зародились. Если это происходит в естественной природе, то зародившийся вид, быстро размножаясь, полностью вытесняет в данном ареале породивший его вид».

Исходя из приведенных данных, приходится констатировать, что автору статьи не удалось до конца преодолеть ошибочные положения, содержащиеся в трудах Дарвина по вопросам видообразования, и дать на примере наиболее изученных им дрожжевых организмов характеристику вида с диалектико-материалистических позиций, развитых в статье Лысенко «Новое в науке о биологическом виде».

Нельзя признать удачным применяющееся автором выражение «Общий образ жизни» для обозначения родственных групп дрожжевых организмов. Лучше было бы в этом случае использовать терминологию, связанную с определением потребности организмов в необходимых для их жизни условиях.

А. А. Имшенецкий в своей статье «О задачах селекции микроорганизмов» дает критический анализ применяющихся в микробиологии методов селекции с позиций мичуринской биологии. Среди иностранных микробиологов все еще широко распространены автогенетические взгляды на изменчивость микробов, основанные на морганистской хромосомной теории наследственности. Согласно этим взглядам, изменения у микробов происходят либо «спонтанно», независимо от окружающей внешней среды, либо под сильным воздействием каких-либо физических или химических агентов. Внешней среде, условиям жизни отводится роль только отбирающего фактора.

В противоположность бесплодным морганистским, автогенетическим концепциям автор показывает действенность и применимость основных положений мичуринской генетики о направленном изменении высших организмов к изменчивости и наследственности микроорганизмов. При этом подчеркивается, что основным методом получения новых форм микроорганизмов может быть только направленное изменение микробов, которое создается путем изменения условий их жизни. Экспериментальные возможности микробиолога в этом отношении почти безграничны, и поэтому микробиологи находятся в значительно более благоприятных условиях, чем селекционеры высших растений или животных.

Развиваемое автором положение о том, что «всякое физиологическое изменение не может не отразиться на структуре клетки», вряд ли в принципе может встретить возражения. В том случае, когда удается установить и легко наблюдать корреляцию между функциональными и морфологическими особенностями культуры, то это в значительной степени облегчает отбор наиболее активных рас микробов. Имшенецкий прав, когда обращает внимание селекционеров на необходимость использования этих коррелятивных связей в работе по отбору новых, более ценных для производства рас. Однако при этом следует учитывать, что в экспериментальной работе не всегда изменения функциональной способности клетки вызывают такие изменения ее формы или формы образуемых измененными клетками колоний, которые могут быть легко замечены. В некоторых случаях изменения внутренней структуры клетки, связанные с изменением ее функций, могут быть настолько незначительны, что практически такие изменения нельзя будет использовать при отборе нужных форм.

В статье приводится много примеров направленного изменения, постепенного приучения микроорганизмов к тем или иным физическим факторам, химическим веществам или новым для них субстратам. Примеры эти представляют несомненный интерес для микробиологов, работающих по направленному изменению и селекции микроорганизмов, поскольку они показывают уже накопленный микробиологами положительный опыт в этом направлении и одновременно раскрывают те методы, в результате применения которых получены соответствующие, наследственно измененные формы. В этой связи, для полноты картины, автору следовало бы упомянуть и о таких методах направленного изменения и селекции, как культивирование на фильтратах и препаратах, полученных от родственных штаммов (метод «наведения») и применение половой гибридизации у спорообразующих дрожжей.

Оценивая статью Имшенецкого в целом, следует отметить, что она правильно ориентирует микробиологов в их работе по селекции ценных для практики форм микроорганизмов и поможет им выбрать соответствующие методы для этой цели.

Статья Д. Л. Шамис «Увеличение бродильной силы винных дрожжей путем направленного воспитания» посвящена актуальному в теоретическом и важному в практическом отношении вопросу. Руководствуясь мичуринским учением о значении условий выращивания посевного материала для поднятия урожайности культур и улучшения качества самих семян, автор статьи провел удачные опыты по предварительному воспитанию чистых культур дрожжей, предназначенных для работы в производственных условиях. Предварительное воспитание проводилось на средах с различными дополнительными источниками азотистого питания. Наилучшие результаты из таких дополнительных источников питания дал автолизат дрожжей. В результате было получено значительное улучшение показателей по сбраживанию плодового сусла с добавленными к нему сахаром и спиртом для получения крепких дессертных вин.

На основании результатов своих исследований автор рекомендует при применении чистых культур проводить предварительное направленное воспитание их, исходя из задач предстоящей производственной деятельности. Эта рекомендация автора за-

служивает серьезного внимания со стороны микробиологов, работающих на производстве.

В статье Л. И. Комаровой «Селекция дрожжей, сбраживающих патоку (мелассу) высоких концентраций» приводятся экспериментальные данные по постепенному приучению дрожжей расы «Я» к высоким концентрациям сахара. В результате проведенной работы автору удалось получить дрожжи, способные лучше сбраживать патоку высокой концентрации, чем исходные.

В статье «Биологическое значение антибактериальных веществ» Н. А. Красильников убедительно обосновывает значение антибиотиков как защитных веществ, вырабатываемых микроорганизмами в борьбе с конкурентными видами. Приспособительное значение антибиотиков особенно наглядно проявляется в тех случаях, когда микробы выделяют их только в смешанных культурах с антагонистами, в то время как в чистых культурах антибиотики ими не вырабатываются.

Развив указанный тезис, автор справедливо отмечает, что в некоторых случаях антибактериальные вещества могут явиться вторичными соединениями, возникающими «в процессе биохимических реакций, протекающих в микробных популяциях», когда они, не являясь специальным защитным приспособлением, могут все же ограничивать размножение других микробных видов. Такими веществами могут явиться простые соединения, например ионы хлористой или серной кислоты, перекись водорода или более сложные химические соединения.

Автор с полным основанием подвергает критике представления Ваксмана и ряда других зарубежных исследователей, которые рассматривают все антибактериальные вещества «как случайные или побочные продукты, образование которых биологически не связано с приспособлением и эволюцией микроорганизма».

Разбирая вопрос о биологическом значении антибактериальных веществ в естественных местообитаниях микробов, например в почве, где они подвергаются быстрой инактивации, автор исходит из общих оснований, разработанных Лысенко в применении к внутривидовым взаимоотношениям организмов:

«а) в природе, так же как и в лабораторной обстановке, между клтеками одного и того же вида нет борьбы и конкуренции;

б) микроорганизмы расселяются в твердых естественных субстратах (в почве и других) очагами или группами, скученно, а не диффузно».

Далее автор последовательно рисует картину распределения микробных популяций в почве. Местами заселения микробов являются поры почвы, а питательной средой для них служит наполняющая поры вода с растворенными в ней минеральными и органическими соединениями.

Развившаяся в поре почвы бактериальная популяция выделяет продукты жизнедеятельности, в том числе антибактериальные вещества. Эти вещества «диффундируют в соседние поры, распределяются в окружающей среде, тут же инактивируются и входят в соединения почвенной массы». Таким образом, антибактериальное вещество эффективно действует только в самых порах, выполняя здесь защитную функцию против вторжения антагонистических видов микробов.

В зависимости от условий окружающей среды видовой состав бактерий в порах почвы может меняться, в связи с чем изменяется и состав действующих здесь антибактериальных веществ.

Это отчасти объясняет, почему в почве нельзя обнаружить антибиотические вещества в тех формах, в которых они получаются в чистых культурах.

Свойственные почве антибактериальные вещества представляют собой своеобразный продукт, полученный в результате не только взаимодействия различных антибактериальных веществ, выделяемых микроорганизмами разных видов, но также и под влиянием физико-химического состава самой почвы.

Развитая автором целостная и стройная концепция антибактериальных веществ, основанная на выводах передовой советской биологии, может служить хорошим руководством в исследованиях микробиологов.

Статья Е. Н. Мишустина «Почвенная микробиология и её очередные задачи» посвящена вопросам практического использования данных сельскохозяйственной микробиологии при выполнении плана полезащитных лесонасаждений и внедрения травопольных севооборотов. Статья носит обзорный характер.

В статье разбирается вопрос о методах использования в лесопосадках микоризных грибов, о применении бактериальных землеудобрительных препаратов в травопольных севооборотах и ряд других вопросов.

Автор считает, что «при решении проблемы питания растений перед микробиологами стоят следующие задачи: а) найти подходы к активизации хотя бы части недоступного растениям фонда почвы; б) принять участие в разработке наиболее эффективных приемов удобрения посевов сельскохозяйственных растений; в) рационализировать применение бактериальных удобрений».

Автор кратко анализирует деятельность микроорганизмов в связи с обработкой и орошением почвы и обосновывает практическую ценность микробиологических методов диагностики состояния почвы.

Сборник заканчивается статьей А. Я. Мусатовой и С. И. Кузнецова «Управление продуктивностью водоемов путем использования биологических методов при внесении

удобрений», в которой приводятся экспериментальные материалы по изменению количественного состава фито- и зоопланктона в водоемах при внесении в них различных доз азота, фосфора, калия и железа.

Из приведенного обзора видно, что сборник тематически составлен удачно, поскольку в нем отражены наиболее злободневные вопросы современной микробиологии. Применение мичуринских принципов позволило большинству авторов дать в основном верную трактовку в таких важных вопросах, как стадийное развитие микроорганизмов, селекция, цитология микроорганизмов, биологическое значение антибактериальных веществ и др.

Содержание большинства статей находится на высоком теоретическом уровне и отвечает воинствующему духу советской биологии, не только утверждающей научные основы учения о жизни, но и ведущей неутомимую борьбу с идеалистическими и метафизическими учениями.

В сборнике есть и слабые места, часть из которых нами отмечена. В целом же он составляет ценный коллективный труд, который, несомненно, принесет большую пользу советскому читателю.

К. С. Сухов и К. В. Косиков

А. И. Метелкин. **Л. С. Ценковский — основоположник отечественной школы микробиологов.** 1822—1887. Гос. изд-во медиц. лит., М., 1950, 263 стр. Ц. 10 р. 20 к.

Литература, посвященная выдающемуся русскому протистологу Льву Семеновичу Ценковскому, очень невелика, отдельная же монография о нем появляется впервые. Автор ее А. И. Метелкин совершенно справедливо указывает, что Ценковский заслуживает подробной научной биографии — не только как выдающийся ботаник и как талантливый русский профессор, который впервые широко ввел микроскоп в свою преподавательскую практику, но и как основоположник отечественной школы микробиологов. Работы Ценковского по вакцинации против сибирской язвы, выполненные им в последние годы жизни, дают основание считать его также и одним из крупных работников медицинской бактериологии, чем и объясняется выход настоящей книги в серии «Выдающиеся деятели отечественной медицины».

Монография А. И. Метелкина начинается с довольно подробного очерка, посвященного истории микроскопических исследований в России до начала деятельности Ценковского. Затем следует глава о годах учения Ценковского и о начале его деятельности в Петербурге. Впервые эта деятельность окончилась неудачей, так как из-за противодействия старых профессоров молодому исследователю-новатору не удалось устроиться для научной работы в Петербурге.

Автор лишь вскользь упоминает об участии Ценковского в двухлетней экспедиции в Северную Африку и о четырехлетнем его пребывании в Ярославле и далее переходит к петербугскому периоду его деятельности (с 1855 г.) уже в качестве профессора ботаники Петербургского университета. На научных работах Ценковского по протистологии, относящихся к этому периоду, А. И. Метелкин останавливается в немногих словах.

Более подробно он характеризует одесский и в особенности харьковский периоды деятельности Ценковского, когда последний занялся работой по бактериологии, в частности,— его изысканиями по методике изготовления вакцин против сибирской язвы. Этому вопросу автор посвящает отдельную главу, самую обширную во всей книге, введя в нее также данные по истории микробиологии в России.

Наконец, следует небольшая глава, в которой описывается юбилей Ценковского, его болезнь и смерть, и заключительная характеристика деятельности Ценковского.

Книга хорошо иллюстрирована портретами и разными снимками. Среди портретов Ценковского есть редкие, малоизвестные, а некоторые впервые, повидимому, появляются в печати.

В целом надо сказать, что автор с большой любовью отнесся к своей теме, поставив своей задачей — восстановить в высшей степени симпатичный образ беспредельно преданного науке ученого-новатора, ученого-патриота, человека высоких моральных качеств и гражданских достоинств. Это автору и удалось вполне, и его книгу с пользой и интересом прочтет не только медик и биолог, но и всякий образованный человек.

Следует отметить, однако, и ряд недостатков, которые имеются в этой работе, нисколько, впрочем, не умаляющих ее положительного значения. Слабо написан вступительный очерк, где автор очень увлекся историей микроскопа,— может быть потому, что имел под рукой готовый материал в виде превосходной книги С. Л. Соболя на эту тему, откуда автор и черпает материал очень широко. Научная деятельность Ценковского, несомненно, тесно связана с применением микроскопа, но значение ее, конечно, не в этом, а в том, как он истолковал виденное в микроскоп, т. е. в тех достижениях в области протистологии, которые удалось сделать Ценковскому.

В этом очерке есть досадные ошибки. Например, автор смешивает зоолога и палеонтолога Григория Ивановича Фишера фон-Вальдгейма с его сыном — Александром Григорьевичем,— профессором ботаники в Московском университете, очень слабым научным работником, который и был изобретателем так называемого «панкратического микроскопа» (стр. 23).

Вопреки утверждению автора (стр. 26), научная деятельность Ценковского развилась не только в эпоху 60—70-х годов, а гораздо ранее. Основная работа Ценковского — его докторская диссертация о низших водорослях и инфузориях — вышла еще в 1856 г.

Весьма сомнительным является утверждение автора, что «немаловажной причиной быстрого подъема естествознания в России явилось то обстоятельство, что в глазах подозрительного правительства увлечение общественных кругов, притом самых активных, естественными науками, наиболее удаленными от политики, представлялось наиболее безопасным движением» (стр. 31). Напротив, в эпоху 40—50-х годов власти крайне настороженно относились к естествознанию, которое представлялось им неблагонадежным предметом, приводящим к материализму. Доказательством могут служить цензурные и административные мероприятия по отношению к Рулье, Куторге, Гутцейту, Дядьковскому и многим другим.

Недостатком работы А. И. Метелкина является также неравномерность ее частей. Относительно много места посвящается работам Ценковского в области борьбы с сибирской язвой, т. е. деятельности последних пяти лет, и гораздо меньше уделяется внимания его трудам в области протистологии, которыми собственно и велик Ценковский как ученый-новатор. История изготовления сибиреязвенных вакцин, несомненно, замечательная страница деятельности Ценковского, полная драматизма, но его главные ученые заслуги лежат, однако, не здесь.

Жаль также, что, отведя так много места деятельности Ценковского в области сельскохозяйственной бактериологии, автор не отразил упомянутого нами драматизма в этой работе Ценковского. А. И. Метелкин почему-то почти ничего не рассказал о тех трагических неудачах, которые преследовали Ценковского прежде чем ему удалось напасть на верный путь. Так, например, в одном случае, при массовом применении его вакцины против сибирской язвы, в стаде из 4328 голов овец иммунитет получили только 944. Такие неудачи тяжело отражались на Ценковском, давали повод к злостным нападкам на него и т. д. Надо было иметь много мужества, чтобы не бросить дела.

В конце книги А. И. Метелкин привел библиографический перечень печатных трудов Ценковского. Это очень полезное и необходимое дополнение к книге, тем более, что существующий список (П. Бучинского) помещен в малодоступном издании (в Трудах Новороссийского общества естествоиспытателей за 1888 г.). А. И. Метелкин дополнил список Бучинского четырьмя русскими работами, но в то же время допустил в своем перечне пропуски и неточности. Так, например, пропущена очень интересная речь Ценковского перед началом прививок сибирской язвы овцам 5 ноября 1886 г. в местечке Белозерке, напечатанная в Сборнике Херсонского земства (1886, № 1, стр. 5—7). Статья Ценковского «Отчет о прививках антракса в больших размерах» напечатана в № 6 Сборника Херсонского земства за 1886 г., а не в XIX т., как указывает автор, такого тома вообще не существует.

Следует пожалеть, что А. И. Метелкин не проверил списка по подлинникам и не снабдил его хотя бы краткими аннотациями, что было бы весьма уместно в отдельной монографии, посвященной Ценковскому.

Необходимо, наконец, отметить некоторую шероховатость языка автора и немалое количество неудачных выражений, особенно там, где автор хочет быть «литературным». Так, например, он пишет, что имя Ценковского «не исчезнет в бездонной пучине истекших лет» (стр. 209). Пастер «едва только в о ш е л на арену своей деятельности». В одном месте читаем такую фразу: «Сквозь скрип канцелярских перьев уже слышались раскаты революционного движения крестьянских масс». Как можно слышать раскаты с к в о з ь с к р и п перьев? На стр. 29 есть такая фраза: «Самой характерной чертой умственного движения того времени был энтузиазм, всецело охвативший наше общество и в особенности н е о б ы ч а й н о р о с ш у ю оппозиционную интеллигенцию из так называемых разночинцев — новый общественный с т р о й, только что народившийся», и т. д.

Нетрудно было бы умножить этот перечень и привести ряд примеров таких мест, где не сразу доберешься до смысла. Но, конечно, все это лишь досадные мелочи по сравнению с тем, как выполнена основная задача книги, которую надо признать весьма полезным приобретением нашей немногочисленной литературы в области истории биологических наук.

Б. Е. Райков

БИБЛИОГРАФИЯ ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ (1950—1951)

в) методы и техника исследования

(Предложение, см. т. XXI, № 5)

Annear D. I. The inoculation, cultivation and enumeration of bacteria on glass surfaces. Methods for disinfection studies. Austr. J. Exp. Biol., 1951, vol. 29, pt. 2, p. 147—151.

Asheshov I. N. and Heagy F. C. A «loop» method for counting viable bacteria or bacteriophage. Canad. J. of Med. Sci., 1951, vol. 29, No. 1, p. 1—4.

Aubert E. «Cold» stain for acid-fast bacteria. Canad. J. Publ. Health, 1950, vol. 41, No. 1, p. 31—32.

Bard R. C. and Mc Clung L. S. Manual of methods: Leaflet 11, 10th ed. Preparation of media. Pure Culture Study of Bacteria, 1950, vol. 18, No. 1/2, p. 1—24.

Barnett H. L., Timnick M. B. and Lilly V. G. Method of inoculation and the production of spores by Guignardia bidwelli and other fungi in culture Phytopath., 1950, vol. 40, No. 1, p. 1.

Bartholomew J. W. and Mittwer T. A simplified bacterial spore stain. Stain Technology, 1950, vol. 25, No. 3, p. 153—156.

Bartholomew J. W., Roberts M. A. and Evans E. E. Dye exchange in bacterial cells, and the theory of staining. Stain Technology, 1950, vol. 25, No. 4, p. 181—186.

Bartholomew W. V. and Broadbent F. E. Apparatus for control of moisture, temperature and air composition in microbiological respiration experiments. Soil Sci. Amer., Proc., 1950, vol. 14, p. 156—160.

Bönicke R. Über die mikrobiologischen Methoden zur Wertbestimmung von antibiotischen und chemotherapeutischen Substanzen. Ztbl. Bakter., I. Orig. 1951, Bd. 157, H. 1/2, S. 158—161.

Braun W. and Howell E. V. A simple method for the automatic separation of smooth bacterial types from mixed population. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 3, p. 366—367.

Brewer J. H. The utility of metal Petri dish covers with absorptive disks. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 2, p. 237—239.

Brough F. K. A rapid microtechnique for the determination of nitrate reduction by microorganisms. J. Bacter., 1950, vol. 60, Nr. 3, p. 365—366.

Buchbinder L., Baris Y., Alff E., Reynolds E., Dillon E. Studies to formulate new media for the standard plate count of dairy products. Publ. Health Repts., 1951, vol. 66, No. 11, p. 327—340.

Conant N. F. Future developments in mycological investigative methods. Ann. New York Acad. Sci., 1950, vol. 50, Art. 10, p. 1245—1249.

Conn H. J. Manul of methods: Leaflet VII. 11th ed. Routine tests for the descriptive chart: morphological and biochemical. Pure Culture Study of Bacteria, 1950, vol. 17, No. 3/4, p. 1—24.

Couper A. Apparatus for following hydrogen-exchange reactions catalysed dy bacteria suspensions. Biochem. J., 1951, vol. 49, No. 2, p. XXXII.

Decker H. M., Moorman H. E. and Glick C. A. Efficiencies of electrostatic precipitators and spun glass filter pads in removing bacterial and viral agents. Bact. Proc., 1950, p. 59.

DeLamater E. D. A staining and dehydrating procedure for the handling of microorganisms. Stain Technol., 1951, vol. 26, No. 3, p. 199—204.

Dreyfus S. Modification apportée à la méthode d'émulsion des levures dans les milieux gélosés, en boîte de Pétri, pour les eaux annogrammes. Ann. Parasitol. Humaine et Comp., 1950, t. 25, No. 4, p. 353.

Drummond D. G. A cover-slip carrying case. J. Sci. Instruments, 1950, vol. 27, No. 11, p. 313.

Duddington C. L. and Dixon S. M. Permanent preparations of fungi growing on agar. Nature. London, 1951, vol. 168, No. 4268, p. 38—39.

Ellis M. B. A modification of the «Necol» technique for mounting microfungi. Transact. Brit. Mycolog. Soc., 1950, vol. 33, pt. 1/2, p. 22.

Elsdon-Dew R. A holder for test tube baskets. Amer. J. Clin. Path., 1951, vol. 21, No. 1, p. 99.

Engelberg R. and Mc Nally M. A simple inexpensive staining device. Amer. J. Clin. Path., 1951, vol. 21, No. 3, p. 296.
Fowell R. R. Hybridization of yeasts by Lindegren's technique. J. Inst. Brewing, 1951, vol. 57, No. 3, p. 180—195.
Gelinsky F. und Lockermann G. Zwillings- und Drillingsgefässe für Sterilisierungsversuche. Ztbl. Bakt. I. Orig., 1950, Bd. 155, H. 5/7, S. 225—227.
Hagens H.-W. Ein neuer Photothermostat für Mikroorganismen. Z. Naturforsch., 1951, Bd. 6b, H. 5, S. 277—278.
Handuroy P. Le «Separateur de Germes», Bull. Ass. Diplomes Microbiol. Fac. Pharm. Nancy, 1950, vol. 39, p. 5—9.
Hartelius V., Ditlevsen E. The cement block, an improved block for spore-formation in yeast. Nature, London, 1951, vol. 168, No. 4270, p. 385.
Hedén C.-G. A micro ball mill for thr disintegration of bacteria. Science, 1951, vol. 113, No. 2929, p. 181.
Hoadley A. D. A method of making artificial field inoculations on the leaves and fruit of tomatoes. Phytopath., 1951, vol. 41, No. 7, p. 658.
Howard I. A. and Fischer B. M. Colony count determinations by the roll-tube method in commercial practice. Dairy Indust., 1950, vol. 15, No. 9, p. 918—919.
Hughes D. E. A press for disrupting bacteria and other microorganisms. British J. Exp. Path., 1951, vol. 32, No. 2, pt. 2, p. 97—109.
Hutchinson P. B. Note on the estimation of bacterial populations. New Zealand J. Sci. and Techn., 1948, vol. 30A, No. 2, p. 81—82.
Johnston B. H. and Foote E. L. Conversion of Arnold sterilizer. Amer. J. Clin. Path., 1950, vol. 20, No. 7, p. 688.
Johnston H. W. Amendment to Gerretsen's technique for the preparation of plates used for studying phosphate-dissolving microorganisms. Plant and Soil, 1951, vol. 3, No. 1, p. 94—96.
Jones W. Preparation of permanent mounts of fungus colonies on cellophane. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 10, p. 967.
Joslyn D. A. and Galbraith M. A turbidimetric method for the assay of antibiotics. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 6, p. 711—716.
Kantorowicz O. Shaking apparatus for the aeration of bacterial cultures. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 2, p. 276—278.
Katznelson H. and Sutton M. D. A rapid phage plaque count method for the detection of bacteria as applied to the demonstration of internally borne bacterial infections of seed. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 6, p. 589—701.
Kautsky H. und Kautsky H., jun. Apparatur zur Erzielung stationärer Bedingungen bei der Kultur von Mikroorganismen. Z. Naturforsch., 1951, Bd. 6d, H. 4, S. 190—199.
Keyworth W. G. A Petri-dish moist chamber. Transact. Brit. Mycolog. Soc., 1951, vol. 34, pt. 3, p. 291—292.
Knudsen L. F. Statistics in microbiological assay. Ann. New York Acad. Sci., 1950, vol. 52, No. 6, p. 889—902.
Kurusz J. J. A differential staining method for live and dead yeast cells. Biodynamica, 1951, vol. 7, No. 132, p. 57—60.
Les lampes germicides. La Nature, 1950, No. 3178, p. 51—52.
McEwen W. W. W. Bacteriological technique. Brooklyn, Chemical Publ. Co., 1950, VIII, 293 pp.
Meinecke G. Eine einfache Apparatur zur Homogenisierung von Submerskulturen. Ztbl. Bakter., I. Orig., 1951, Bd. 157, H. 3/4, S. 306—308.
Moore W. T. and Mason B. Blender for preparation of mycelian inocula. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. 516—518.
Moore W. T. and Taylor C. B. An improved colon illuminator. J. Gen. Microbiol., 1950, vol. 4. No. 3, p. 448—449.
Ørskov J. Simple method for direct «dark-field agar microscopy». Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1950, vol. 27, fasc. 5, p. 765—766.
Paccagnella B. Nuovo metodo di esame batteriologico e culturale dei liquidi mediante i filtri a membrana. Riv. Ital. Igiene, 1950, vol. 10, No. 9/10, p. 314—323.
Papazian H. P. A method of isolating the four spores from a single basidium in Schizophyllum commune. Bot. Gazet., 1950, vol. 112, No. 1, p. 139—140.
Patel M. K., Kulkarni N. B. and Gaekwar S. R. Staining bacterial flagella. Current Sci., 1950, vol. 19, No. 9, p. 322—323.
Pearce T. W. and Powell E. O. New techniques for the study of growing microorganisms. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 91—103.
Piringer W. A. and Reinhart W. Über Frischfärbungen von Bakterien. Schweiz. Z. Pathol. und Bakter., 1950, Bd. 13, Nr. 2, S. 164—174.
Roberts C. Methods in yeast genetics. Methods in medical research, 1950, vol. 3, 37—50.
Ryan F. J. Selected methods of neurospora genetics. Methods in medical research, 1950, vol. 3, p. 51—75.
Santa-Maria J. A new method of cultivation: agar of grama-grass. I. Microbiol. Española, 1950, vol. 3, No. 1, p. 31—37.

Severi R. Un metodo semplice per mettere in evidenza i nuclei microbici. Bollet. Soc. Ital. Biol. Speriment., 1950, vol. 26, No. 4, p. 517—519.
Slocum G. G. Report on microbiological methods. J. Assoc. Offic. Agricult. Chemists, 1950, vol. 33, No. 3, p. 742—744.
Stanton W. R. The use of thin polythene sleeving for moist chambers in inoculation studies. Phytopath., 1951, vol. 41, No. 5, p. 476—477.
Stier T. J. B., Scalf R. E. and Brockmann M. C. An all-glass apparatus for the continuous cultivation of yeast under anaerobic conditions. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 1, p. 45—49.
Stille B. Eine mikrobiologische Methode zum Nachweis von Samen- und Wurzelausscheidungen. Arch. Mikrobiol., 1950, Bd. 15, H. 1, S. 149—151.
Stirling A. G., Stevens M. K. and Lawley D. N. Colony counts on strips of agar in tubes. J. Gen. Microbiol., 1950, vol. 4, No. 3, p. 339—344.
Tervet I. W. A technique for the collection of dry spores from infected plants. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 9, p. 874.
Tervet I. W. and Cassell R. C. A simple method for collecting and inculcating rusts in race identification studies. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 9, p. 874.
Tervet I. W. and Cassell R. C. The use of cyclone separators in race identification on cereal rusts. Phytopath., 1951, vol. 41, No. 3, p. 286—290.
Tervet I. W., Rawson A. J., Cherry E. and Saxon R. B. A method for the collection of microscopic particles. Phytopath., 1951. vol. 41, No. 3, p. 282—285.
Tung S. L. Blutagarplatte mit Zusatz von Chinablau für bakteriologische Untersuchungen und Resistenzbestimmungen. Acta Path. Microbiol. Scand., 1951, vol. 29, Fasc. 2, p. 189—193.
Walch H. A., Jann G. J., Salle A. J., A simple sampling device for submerged cultures. Science, 1951, vol. 114, No. 2962, p. 368—369.
Wannamaker L. W., Denny F. W., Rammelkamp C. H. and Brink W. Use of Maxted's method for group classification of hemolytic streptococci. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1950, vol. 73, No. 3, p. 467—479.
Wedum A. G. Non-automatic pipetting devices for the microbiologic laboratory. J. Labor. and Clin. Med., 1950, vol. 35, No. 4, p. 648—651.
Wilson A. T. A simple device for the growth of anaerobic organisms in liquid media. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1950, vol. 75, No, 2, p. 515—517.
Wilson A. T. and Bruno P. The sterilization of bacteriological media and other fluids with ethylene oxide. J. Exp. Med., 1950, vol. 91, No. 5, p. 449—458.
Winkler A. Zur Anwendung des Phasenkontrastverfahrens in der Bakteriologie. Z. Naturforsch., 1951, Bd. 6b, H. 2, S. 72—76.
Winkler A. und Knoch M. Zur Fixierung von Bakterienpräparaten. Ztbl. Bakter. I. Orig., 1951, Bd. 157, H. 3/4, S. 239—243.
Zelle M. R and Lederberg J. Single-cell isolations of diploid heterozygous Escherichia coli. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 351—355.

Продолжение см. т. XXII, № 1

ХРОНИКА

АВГУСТ МАРТЫНОВИЧ КИРХЕНШТЕЙН

(К 80-летию со дня рождения)

18 сентября 1952 г. исполнилось 80 лет со дня рождения крупнейшего ученого и государственного деятеля Советской Латвии Августа Мартыновича Кирхенштейна. Его юбилей был тепло отмечен в столице Латвийской ССР — в городе Риге. Многочисленные представители общественных и научных учреждений Советского Союза, товарищи и бывшие ученики поздравили юбиляра со знаменательной датой, пожелав ему здоровья и новых успехов в его многогранной деятельности ученого и гражданина.

Действительный член Академии наук Латвийской ССР, заслуженный деятель науки, основатель и бессменный директор Института микробиологии Латвийской Академии наук, профессор, доктор агрономических и биологических наук А. М. Кирхенштейн принадлежит к славной плеяде тех передовых ученых, которые, посвятив себя борьбе за лучшую жизнь своего народа, до конца остаются преданными ему.

А. М. Кирхенштейн родился в 1872 г. Специальными научными исследованиями он занимался еще будучи студентом Ветеринарного института в г. Тарту. По окончании института в 1902 г. А. М. Кирхенштейн работал у себя на родине участковым, затем городским ветеринарным врачом. В 1905 г. он принимал активное участие в революционном движении, за что царское правительство заочно приговорило его к смертной казни. Вынужденный эмигрировать за пределы царской России, А. М. Кирхенштейн остался верным своим идеалам.

После Великой Октябрьской социалистической революции он немедленно вернулся на родину и целиком отдал себя общественной работе. Своей неутомимой деятельностью А. М. Кирхенштейн заслужил большое уважение и любовь своего народа. Поэтому, когда в Латвии в 1940 г. было свергнуто фашистское ульмановское правительство, А. М. Кирхенштейна единодушно избрали депутатом народного сейма, а затем — в том же году — председателем Верховного Совета Латвийской ССР. В 1941 г. он был избран заместителем председателя Верховного Совета СССР.

В годы Великой Отечественной войны А. М. Кирхенштейн принимал деятельное участие в создании латвийских частей Советской Армии, заботился об их быте, выступал по радио и в печати с патриотическими призывами к населению своей страны и т. д.

При всем этом он никогда не прекращал работать по микробиологии. Его давние исследования по тончайшему строению и истории развития различных бактерий, образованию ими жизнеспособных гранул и т. д. хорошо известны специалистам. Значение этих исследований особенно возросло сейчас в связи с изучением неклеточных форм жизни.

Выдающийся интерес представляют также работы А. М. Кирхенштейна в области иммунитета. Его опыты, относящиеся еще к 1913 г., показали, что решающим фактором в развитии инфекционного заболевания является не столько патогенный микроб, как это считали бактериологи немецкой школы, сколько устойчивость макроорганизма, которая в свою очередь зависит от условий жизни последнего. И действительно, если его опытные животные получали полноценное и, особенно, витаминное

питание, то инфекция этих животных оставалась или латентной, или принимала ограниченные размеры.

Эти данные, нашедшие полное объяснение в мичуринском законе о единстве организмов и условий жизни, направили внимание автора на пересмотр старых представлений о пищевых рационах и на работу по изменению их в целях повышения устойчивости человека и животных к различным инфекционным заболеваниям.

Сказанным далеко не исчерпывается круг научных интересов А. М. Кирхенштейна.

В целях широкой популяризации многочисленных трудов маститого юбиляра, опубликованных в различных и нередко мало доступных изданиях, Редакционно-издательский совет АН СССР в 1952 г. принял решение напечатать избранные — по представлению Латвийской АН и биологического отделения АН СССР — работы А. М. Кирхенштейна на русском языке.

Правительство СССР высоко оценило заслуги А. М. Кирхенштейна перед Родиной, наградив его двумя орденами Ленина, орденом «Отечественной войны 1 ст.» и медалями.

В. И. Кудрявцев

СОДЕРЖАНИЕ XXI ТОМА

Алексеев В. А. Редукция сульфатов возбудителями мочки льна 36

Алексеев В. А. О фиксации атмосферного азота возбудителями мочки льна Granulobacter pectinovorum и Bac. felsineus . . 166

Бачинская А. А. и Кондратьева А. А. Новый вид гриба Endomyces ascosporus . . . 657

Беккер З. Э. О методике селекции грибов в условиях производства 87

Белоусова Т. З. См. Разумовская З. Г. 403

Березова Е. Ф. и Ремпе Е. Х. Методика исследования клубеньковых бактерий в корневой системе бобовых растений . . 416

Биркель М. Р. Формирование прочной структуры почвы за счет разлагающегося клевера . 290

Бирюзова В. И. См. Рукина Е. А. 60

Бланк Л. А. См. Вайберг Б. Г. 42

Бобович В. Т. Сухие культуры бактерий для борьбы с грызунами 187

Богданов В. М. Применение культур дрожжей в маслоделии 321

Богданов В. М. О связи науки с производством 455

Вайнберг Б. Г., Бланк Л. А. и Эйдлер Л. Е. Антагонистические отношения между некоторыми микробами на плотной питательной среде 42

Вайндрах Г. М. и Шерман Я. И. Из истории вирусологии. Полемика Д. И. Ивановского с М. В. Бейеринком . . 495

Василенко А. Г. О направленной изменчивости антагонистических свойств 671

Вертелецкая В. В. См. Корнилов А. А. 423

Винберг Г. Г. и Сивко Т. Н. Некоторые наблюдения над «зеленой бактерией» 139

Виноградова И. Н., Платонова И. П. и Петренко В. А. Новый способ получения протеолитических ферментов высокой активности из плесневого гриба Asp. terricola . . . 692

Волкова О. Ю. Антибактериальные свойства лечебных грязей в условиях их формирования . 177

Ворошилова А. А. См. Дианова Е. В. 311

Ворошилова А. А. и Дианова Е. В. Окисляющие нефть бактерии — показатели интенсивности биологического окисления нефти в природных условиях . 408

Гамова-Каюкова Н. И. О селекции производственно-ценных микроорганизмов для пищевых продуктов 83

Гибшман М. Р. Уксуснокислые бактерии в молочных продуктах 647

Голышева М. Г. См. Михлин Э. Д. 521

Горбунова. Н. П. К методике микроскопического исследования микоризы древесных пород . 561

Горленко М. В. Выдающийся русский миколог и микробиолог И. Л. Сербинов 239

Дианова Е. В. и Ворошилова А. А. Закономерности развития сапрофитных бактерий в процессе самоочищения загрязненных рек 311

Дианова Е. В. См. Ворошилова А. А. 408

Драбкин Б. С. и Иоффе А. З. О протистоцидном действии некоторых плесневых грибов . . 700

Дульман Т. М. и Копьев А. А. Взаимоотношения между пектиноразлагающими и денитрифицирующими бактериями 677

Дьяченко П. Ф. и Романович Т. Г. Бактерицидные свойства протаминов 185

Егорова В. К. См. Работнова И. Л. 429

Егоров Н. С. О насильственном антагонизме у бактерий (Обзор работ И. Г. Шиллера) . . . 116

Елецкий И. К. См. Работнова И. Л. 429

Залесский Ю. М. Применение плексигласа в изготовлении микроскопических препаратов . . 226

Заславский А. С. О солелюбивых тионовокислых бактериях соляных водоемов 31

Заславский А. С. О выживаемости некоторых гнилостных и гноеродных микроорганизмов в стерилизованных термической обработкой фруктовых соках . . 172

Журавлев И. И. Вирулентность фузариумов, вызывающих полегания всходов сосны 588

Журбина В. И. См. Крестовникова В. А. 721

Измайлова Н. Б. См. Крестовникова В. А. 721

Иерусалимский Н. Д. и Лурье Л. М. Значение тиамина для образования ацетона гладким и лопастным вариантом Bac. acetoethylicus 155

Имшенецкий А. А. О накоплении биомассы в культурах складчатой формы Sacch. cerevisiae. 3

Иоффе А. З. См. Драбкин Б. С. 700

Итоги дискуссии по вопросам селекции микроорганизмов 257

Калина Г. П. и Фихман Б. А. Образование кристаллов в культурах бактерий 528
Калиненко В. О. О строении Bac. mycoides 171
Калиненко В. О. Бактерии и беспозвоночные животные морского дна 555
Камнева З. Ф. См. Чистяков Ф. М. 540
Касаткина И. Д. К физиологической характеристике гладких и складчатых форм Pen. chrysogenum 548
Квасников Е. И. О некоторых принципах селекции микроорганизмов для производства . 71
Квасников Е. И. Спиртоустойчивость молочнокислых бактерий 160
Кеппен В. А. См. Михлин Э. Д. 521
Кирьялова Е. Н. К статье В. И. Кудрявцева «О непрерывной селекции микроорганизмов из производства» 92
Китавин Г. С. Стимуляция дыхания и биосинтеза витамина B_2 Aspergillus niger при действии на него ядовитых веществ . 438
Климов А. Н. См. Минкевич И. Е. 293
Комарова Л. И. Роль естественного перемешивания в спиртовом брожении 579
Кондратьева А. А. См. Бачинская А. А. 657
Коновалов С. А. Определение дозировок азота для питания дрожжей 273
Копьев А. А. См. Дульман Т. М. 677
Корецкая З. М. Влияние древесных насаждений на микофлору почв в условиях степи . . . 566
Корнилов А. А. и Вертелецкая В. В. Продвижение эспарцета в засушливые степные районы и роль клубеньковых бактерий 423
Косиков К. В. Новый метод выдения отдельных клеток микроорганизмов 449
Красильников Н. А. Антибиотические свойства пади . . 19
Крестовникова В. А. Журбина В. И. и Измайлова Н. Б. К вопросу о природе бактериофага 721
Кривицкий А. С. О роли фильтрующихся форм в биологии микроорганизмов 596
Крицман М. Г. Современные представления об адаптивных ферментах (обзор) 480
Крутикова Л. П. Сравнительная оценка питательных сред для производства культур бактерий Исаченко-Данича . . . 66
Кублановская Г. М. Об использовании актиномицетов-антагонистов против фузариозного увядания хлопчатника . . . 340
Кузнецов С. И. Замечания к статье Е. А. Рукиной и В. И. Бирюзовой «Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток» 476
Кузнецова В. М. См. Шапошников В. Н. 146, 280
Литвинова Е. В. и Раевская О. Г. Влияние условий культивирования на развитие жирообразующего гриба из рода Fusarium 572
Логинова Л. Г. Сбраживание мальтозы термофильными дрожжами 684
Лойцянская М. С. и Мовчан Н. А. О взаимоотношениях уксуснокислых бактерий и уксусных угриц 330
Лурье Л. М. См. Иерусалимский Н. Д. 155
Мамонтова А. Н. Получение высокоактивных антигрибных сывороток 200
Минкевич И. Е. и Климов А. Н. Химическая природа антибиотиков, выделяемых картофельной палочкой 293
Миронов Л. См. Симонович Н. М. 718
Митюшова Н. М. О необходимости углекислоты для бактерий, окисляющих сорбит в сорбозу 265
Михлин Э. Д., Голышева М. Г. и Кеппен В. А. Влияние условий аэрации на развитие уксуснокислых кетогенных микроорганизмов . . . 521
Мозохина-Поршнякова Н. Н. См. Шапошников В. Н. . 146
Нахимовская М. И. См. Ярмоленко Л. И. 300
Неймарк А. М. См. Пасынский А. Г. 594
Нехотенова Т. И. К методике анализа консервов 336
Ованесян Т. Т. Некоторые биологические особенности возбудителя мускардины тутового шелкопряда в Грузинской ССР . 445
Озолина Г. К. См. Работнова И. Л. 429
Оксентьян У. Г. Этиология черного бактериоза пшеницы . . . 205
Ордин А. П. Антагонизм почвенных грибов из рода Penicillium по отношению к фитопатогенным бактериям . . . 192
Ордин А. П. Получение односпоровых культур пенициллов с помощью сухой иглы . . . 453
Палий Я. И. Рост микроорганизмов в условиях пониженных атмосферных давлений 14
Пасынский А. Г. и Неймарк А. М. Стеклянный лабораторный ферментер 594
Передовые 393, 641
Петренко В. А. См. Виноградова И. Н. 692
Пешков М. А., Раутенштейн Я. И., Сороки-

на М. И., Чередниченко А. Ф. и Шаркова А. С. Цитологические изменения мицелия Act. globisporus при лизисе его под влиянием актинофага 665
Планельес Х. Х. О классификации антибактериальных веществ 584
Платонова И. П. См. Виноградова И. Н. 692
Полонская М. С. Антибиотические вещества ацидофильных бактерий 303
Потлайчук В. И. Род Nigrospora Zimm, его видовой состав и систематическое положение . 219
Прохоров М. И. Роль русских ученых в открытии и разработке бактериологического метода борьбы с вредными грызунами 109
Работнова И. Л., Егорова В. К., Озолина Г. К. и Елецкий И. К. О некоторых особенностях физиологии Cl. Pasteurianum 429
Работнова И. Л. См. Шапошников В. Н. . . . . 146 и 280
Раевская О. Г. См. Литвинова Е. В. 572
Райков Б. Е. Об одной неизвестной работе Ценковского . . . 360
Разумов А. С. Замечания к статье Е. А. Рукиной и В. И. Бирюзовой «Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток» 478
Разумовская З. Г. и Белоусова Т. З. Отношение к углекислоте уксуснокислых бактерий скорого способа производства . 403
Раутенштейн Я. И. См. Пешков М. А. 665
Ремпе Е. См. Березова В. 416
Романович Т. Г. См. Дьяченко П. Ф. 185
Рукина Е. А. и Бирюзова В. И. Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток 60
Рыжков В. Л. Систематика вирусов в современной литературе 458
Рябченко И. М. О методе непрерывной селекции микроорганизмов из производства . . . 77
Сивко Т. Н. См. Винберг Г. Г. 139
Симанович Н. М. и Миронов Л. Приспособление лабораторного микроскопа для люминесцентной микроскопии 718
Сопрунов Ф. Ф. и Сопрунова Н. Я. О взаимоотношениях между хищными почвенными грибами и нематодами . . . 23
Сорокина М. Н. См. Пешков М. А. 665
Старыгина Л. П. Bac. polymyxa как возбудитель мягкой гнили. 52
Степанов К. М. и Шалышкина В. И. Плоды и семена лимона — источники заразного начала инфекционного усыхания («мальсекко») 48
Страхов Т. Д. Патологический процесс у растений и дегенерация возбудителей головни. I. . 705
Сушкина Н. Н. Современные данные об экологии Az. chroococcum (Обзор). 96
Теплякова З. Ф. Новые виды галофильных и целлюлозоразрушающих бактерий 283
Федоринчик Н. С. Вирулентность и эффективность культуры паразита ржавчины Darluca filum (Biv.) Cast. 711
Федоров М. В. Об аммиаке, как первичном продукте фиксации молекулярного азота бактериями (Обзор) 348
Федоров М. В. Частичное отвлечение продуктов фиксации молекулярного азота из клеток азотобактера в питательную среду 395
Федоров М. В. Памяти проф. Н. Н. Худякова 608
Фихман Б. А. и Калина Г. П. Хохряков М. К. Специализация возбудителя инфекционного усыхания лимонов (Deuterophoma tracheipila Petri) . . 210
Чередниченко А. Ф. См. Пешков М. А. 665
Чистяков Ф. М. и Камнева З. Ф. Образование кристаллов в культурах психрофильных бактерий 540
Шалышкина В. И. См. Степанов К. М. 48
Шапошников В. Н. Углекислота в обмене веществ гетеротрофных бактерий (Обзор) 737
Шапошников В. Н., Работнова И. Л., Ярмола Г. А., Кузнецова В. М. и Мозохина-Поршнякова Н. Н. О развитии бактерии за счет натурального каучука . . . 146
Шапошников В. Н., Работнова И. Л., Ярмола Г. А. и Кузнецова В. М. О развитии плесневых грибов за счет натурального каучука . . . 280
Шаркова А. С. См. Пешков М. А. 665
Шерман Я. И. См. Вайндрах Г. М. 495
Эйдлер Л. Е. См. Вайнберг Б. В. 42
Эльпинер И. Е. Ультразвуковые волны в микробиологии (Обзор) 228
Ярмола Г. А. См. Шапошников В. Н. 146, 280
Ярмоленко Л. И. и Нахимовская М. И. Бактерия из группы Bac. mesentericus антагонист актиномицетов . . . 300
Рефераты 243, 367, 611
Критика и библиография 121, 247, 370, 498, 617
Хроника 133, 250, 384, 638

СОДЕРЖАНИЕ

XIX съезд Коммунистической партии Советского Союза и задачи микробиологии 641

М. Р. Гибшман. Уксуснокислые бактерии в молочных продуктах 647

А. А. Бачинская и А. А. Кондратьева. Новый вид гриба Endomyces ascosporus 657

М. А. Пешков, Я. И. Раутенштейн, М. И. Сорокина, А. Ф. Чередниченко и А. С. Шаркова. Цитологические изменения мицелия Act. globisporus при лизисе его под влиянием актинофага 665

А. Г. Василенко. О направленной изменчивости антагонистических свойств 671

Т. М. Дульман и А. А. Копьев. Взаимоотношения между пектиноразлагающими и денитрифицирующими бактериями 677

Л. Г. Логинова. Сбраживание мальтозы термофильными дрожжами . . . 684

И. Н. Виноградова, И. П. Платонова и В. А. Петренко. Новый способ получения протеолитических ферментов высокой активности из плесневого гриба Aspergillus terricola 692

Б. С. Драбкин и А. З. Иоффе. О протистоцидном действии некоторых плесневых грибов 700

Т. Д. Страхов. Патологический процесс у растений и дегенерация возбудителей головни. I. Патологический процесс и факторы среды 705

Н. С. Федоринчик. Вирулентность и эффективность культуры паразита ржавчины Darluca filum (Biv.) Cast. 711

Н. М. Симонович и Л. Миронов. Приспособление лабораторного микроскопа для люминесцентной микроскопии 718

В. А. Крестовникова, В. И. Журбина и Н. Б. Измайлова. К вопросу о природе бактериофага 721

В. Н. Шапошников. Углекислота в обмене веществ гетеротрофных бактерий (Обзор) 735

Рефераты 748

Критика и библиография 754

Хроника 764

Содержание XXI тома 766

Т-09329 Подписано к печати 3.XII. 1952 г. Печ. л. 10,96+2 вклейки.
Уч.-изд. л. 13,3 Формат бумаги 70×108 1/16. Бум. л. 4 Тираж 5575 экз. Зак. 728

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10.

Цена 12 руб.